

# LABOR JOURNAL

Magazin für Medizin und Biowissenschaften 11/2020

Special:



## Strukturanalyse von Biomolekülen

**BIO TRIFFT MATHE**

Rechenmodelle  
vereinfachen Biologie

**OHRIDSEE**

Tiefe Einblicke in  
die Evolution

**ANTIVITAMINE**

Im Kampf gegen  
Antibiotika-Resistenz

# HIDDEN HEROES.



IVD



MD



MD



IVD



IVD

For over 115 years, laboratory equipment from HETTICH has been used for research and diagnostics in the fight against global pandemics and the development of new vaccines. Reliable, safe and fully compliant with all new directives – for healthy patients and a healthy society. Today, as always, we are there for you.



Die Zahl der Corona-Infizierten schießt weltweit durch die Decke, und auch in Deutschland, Österreich und der Schweiz bricht Ende Oktober die zweite Welle über die Gesundheitsämtern und Kliniken herein. In Deutschland müssen wir über den November hinweg wieder starke Einschränkungen des öffentlichen Lebens hinnehmen, wir befinden uns im „Lockdown Light“.

Dabei hatte es im Frühjahr verhältnismäßig gut angefangen. Deutschland stand (und steht) im Vergleich zu seinen europäischen Leidensgenossen in der Pandemie-Bekämpfung noch recht gut da. Der frühzeitige „Lockdown“ hatte Schlimmeres verhindert, und auch Österreich und der Schweiz war es gelungen, die Zahl der Infizierten klein zu halten. „*Flatten the curve*“ – wir hatten es geschafft.

Doch mit dem Ende der milden Temperaturen wurde die Lage immer kritischer. Der Kampfspruch verstummte. Warum? Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) versuchte, die Frage zu beantworten, und hatte im September den möglichen Übeltäter ausfindig gemacht: die Pandemie-Müdigkeit. Die WHO versteht darunter die Demotivation, empfohlenem Schutzverhalten zu folgen. Diese entwickelt sich allmählich im Laufe der Zeit und ist von einer Reihe von Emotionen, Erfahrungen und Wahrnehmungen abhängig. Zu-

mindest in Europa hatten die Mitgliedsstaaten genau dieses Verhalten in der Bevölkerung beobachtet. Die Menschen hielten sich nicht mehr ausreichend an die empfohlenen Schutzmaßnahmen, schreibt die WHO in einer Publikation mit dem Namen „*Pandemic fatigue – Reinvigorating the public to prevent COVID-19*“. Außerdem würden sich die Leute weniger über die Pandemie informieren und COVID-19 nicht mehr ausreichend als Risiko wahrnehmen.

Ist das überraschend? Nein, sagt die WHO: „Eine solche Demotivation ist natürlich und wird in dieser Phase einer Krise erwartet.“

In dem Papier schreibt die Organisation auch, woran das liegt. Ein Grund für die Pandemie-Müdigkeit: Egal, wie bedrohlich eine Situation zu sein scheint, irgendwann gewöhnt sich der Mensch daran. Aus einem Ausnahmezustand wird Normalität. Ungeduldige Stimmen werden immer lauter: „Irgendwann muss es doch auch mal weitergehen!“

Der zweite Grund: Wenn Beschränkungen lange anhalten, nimmt der Drang nach Selbstbestimmung und Freiheit immer weiter zu. Ein Verhalten, das wir im Sommer auf den Schwurbel-Demos in ganz Deutschland beobachten konnten.

Und *last but not least*: Menschen können die Gefahr nicht mehr richtig einschät-

zen. So erscheint ein gefährliches Virus nicht mehr als Bedrohung, obwohl die epidemiologischen Daten etwas ganz anderes sagen. An diesen hielten im Sommer und auch noch später alle (vernünftigen) Virologen und Epidemiologen eisern fest und mahnten zur Vorsicht – und prompt wurde ihnen Panikmache vorgeworfen.

Die Genfer Virologin Isabella Eckerle wehrte sich am 23. Oktober in einem Tweet gegen diese Vorwürfe: „[...] Ich habe [...] eher das Gefühl, Panik und Angst ist gerade das geringste Problem. Im Gegenteil – genug versuchen noch, das Letzte, was geht, auszureizen, Hauptsache doch noch irgendwie Feiern, Urlaub, Veranstaltung – ist ja noch erlaubt.“

Wie diese „Erlaubnis“ enden kann, zeigt unter anderem der Landkreis Sömmerda in Thüringen. Dort war der Ausgangspunkt für die Einstufung als Risikogebiet eine Hochzeit mit 120 Leuten gewesen. Die für den Landkreis zuständige Amtsärztin Dagmar Dammers teilte dem ZDF in einer Berichterstattung mit: „Die Leute haben nichts Böses getan. Die haben gefeiert, als sie feiern durften, mit 120 Leuten. Da waren dann halt mehrere Infizierte drunter, und das hat sich wie eine Lawine über den ganzen Landkreis ausgebreitet.“ Hoffentlich bekommt die Corona-Lawine mit dem „Lockdown Light“ wieder einen Dämpfer.

Foto: Pixabay/ jacky73490





NACHRICHTEN



- 6 Das besondere Foto: „Kürbis-Katze“ / Comic: Forscher Ernst
- 8 Fokussiert: Inkubiert / MTA-Reformgesetz – Heilpraktiker raus?
- 10 Frisch gefördert: Parkinson-Forschung / COVID-19-Uniklinik-Netzwerk / Biologisches Alter / Mikroplastik-Diagnostik

HINTERGRUND



- 12 Im Corona-Gespräch: Peter Kremsner über den aktuellen Impfstoff-Wettlauf
- 18 Nützlich, lästig, idealisiert – Mathematik und Biologie gehören zusammen

SERIEN



- 22 Wissenschaftsnarr (33): „Wissenschaft berät Politik“ oder „Survival of the ideas that fit“
- 25 Erlebnisse einer TA (139): Vertretervielfalt
- 55 Wirkstoffe des Monats (11): Monoklonale Antikörper gegen SARS-CoV-2

JOURNAL-CLUB



- 26 Journal-Club kompakt
- 27 Schöne Biologie: Hypothesen in Sackgassen
- 28 Neurobiologie in Bochum: Das Paradoxon der Glutamat-Rezeptor-Wirkstoffe
- 30 Evolution in Gießen: Einblick in das Ökosystem des ältesten Sees Europas
- 32 Stichwort des Monats: Antivitamine



Biologie und Mathematik stehen gewissermaßen irgendwo zwischen Liebesheirat und Zwangsehe. Nicht zu bestreiten ist aber, dass Biologen von den Rechenmodellen ihrer Mathematik-Kollegen einiges lernen können. Seite 18



Der Ohridsee zwischen Mazedonien und Albanien entstand vor über einer Million Jahre. Damit ist er der älteste See Europas. Gießener Ökologen konnten sich kürzlich einen Sedimentbohrkern aus dem Gewässer genauer ansehen und dabei einen tiefen Einblick in die Evolutionsgeschichte im See ergattern. Seite 30

# „ Unser Titelthema: Special Strukturanalyse von Biomolekülen

Nur wenn man die Struktur von Proteinkomplexen oder molekularen Maschinen kennt, kann man herausfinden, wie sie im Detail funktionieren. Neben Röntgenstrukturanalyse und NMR setzen Strukturbologen zunehmend auf die Cryo-Elektronenmikroskopie, um die Strukturen zu lösen. Mehr ab Seite 38.

## STATISTIK



- 34 Publikationsanalyse:  
Rheumaforschung

## SONSTIGES

- 24 Impressum  
33 Preisrätsel:  
Die Nobel-Zuarbeiterin  
74 Comic: Die „Lab-Files“  
von Chris Schlag

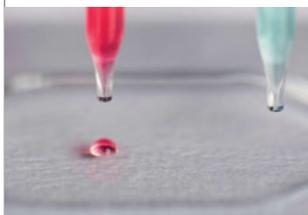
## SPECIAL



### Strukturanalyse von Biomolekülen

- 38 Röntgenstrukturanalyse,  
NMR und Cryo-Elektronenmikroskopie – ein  
Methoden-Überblick  
40 Magnete gegen  
SARS-CoV-2  
44 Strukturbologen setzen  
auf tiefgekühlte  
Elektronenmikroskopie  
48 Strukturen sehen statt  
vermuten – Gespräch mit  
MPI-Direktor Holger  
Stark (Göttingen)  
51 Biotech-Dienstleister  
übernehmen Protein-  
strukturanalysen

## WIRTSCHAFT



- 54 Wirtschafts-News  
56 Firmenporträt: Refined  
Laser Systems (Münster)  
58 Produktübersicht:  
Fluoreszenzfarbstoffe  
68 Neue Produkte

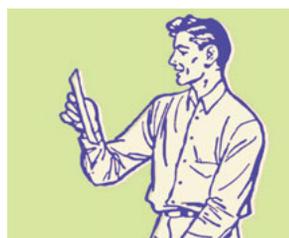
## METHODEN



- 66 Tipps & Tricks:  
Einfaches und schnelles  
In-vitro-Kultur-System für  
Arabidopsis

## SERVICE

- 69 Kongresse  
71 Fortbildungen  
72 Stellenmarkt

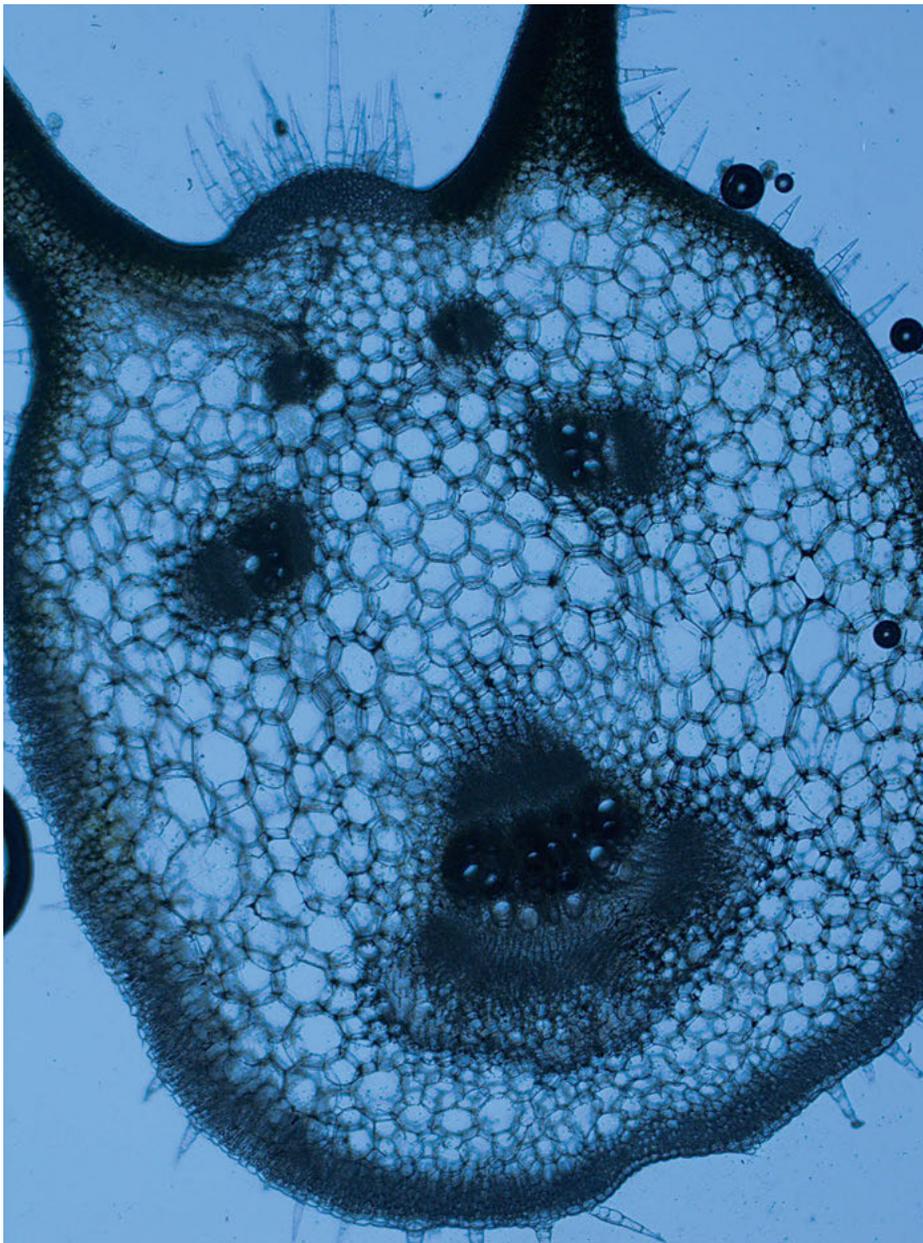


Antivitamine (die Gegenspieler der Vitamine) sind enorm vielfältig und greifen in den Vitamin-Stoffwechsel von Organismen an den verschiedensten Stellen ein. Was Antivitamine dabei alles bewirken und wie sie im Kampf gegen Antibiotika-Resistenzen helfen können, gibt's ab Seite 32.

 [www.facebook.de/  
laborjournal](https://www.facebook.de/laborjournal)

 [@Lab\\_Journal](https://twitter.com/Lab_Journal)

[www.laborjournal.de](http://www.laborjournal.de)



## Kürbis-Katze

»Was wäre das Internet ohne Katzenfilmchen...

Manchmal blickt einen ein Katzengesicht allerdings auch unverhofft durch das Mikroskop an.

Hier handelt es sich um einen Querschnitt durch ein Kürbisblatt (*Cucurbita maxima*). Die beiden „Ohren“ deuten die Blattspreite an, wobei der zentrale Teil die „Hauptader“ des Blattes widerspiegelt. „Augen und Mund“ bilden hier die verschiedenen bikollateralen Leitbündel.«

So gesehen und beschrieben von Matthias Zimmermann aus der Pflanzenphysiologie der Universität Jena.

## Forscher Ernst

von Rafael Florés



# Antikörper, ELISA-Kits und Proteine – aus unserem Labor für Ihres

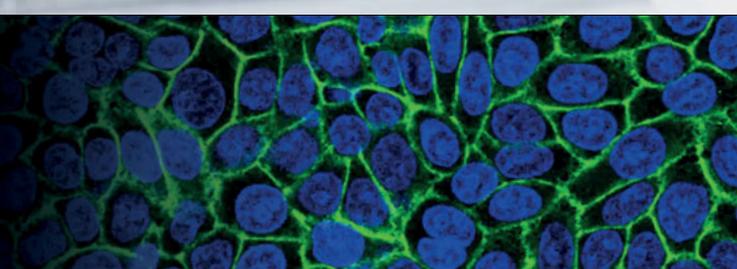
Sämtliche Proteintech-Produkte werden intern hergestellt und validiert. Somit können wir sicherstellen, dass das Produkt auch wirklich funktioniert und Ihnen hilft, schneller und mit reproduzierbaren Ergebnissen zu publizieren.

## Unser Produkt-Angebot umfasst:

- Antikörper gegen mehr als 13.000 menschliche Targets
- 20 µl-Probegrößen für 109€ erhältlich
- Mit fluoreszierenden CoraLite-Farbstoffen konjugierte Antikörper
- in humane Zellen exprimierte HumanKine<sup>®</sup> - Proteine
- 150€ Tag/Kontrollantikörper
- Sekundärantikörper
- vorgefärbte Proteinmarker
- ELISA-Kits

Standardmäßige Lieferung am nächsten Tag.

**3 FÜR 2 AUF ALLE  
PRIMÄRANTIKÖRPER**



## Inkubiert

Über Wohl und Wehe von Förderanträgen entscheidet allein die wissenschaftliche Exzellenz. Insbesondere bei der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses wird dies immer stets als oberste Maxime betont. Der Gedanke dahinter ist klar: Die Besten von heute werden ziemlich sicher auch die Besten von morgen sein – gerade, wenn man sie schon früh identifiziert und fördert.

Aber ist das wirklich so? Drei Herren namens Wang, Jones & Wang von der Northwestern University in Evanston/USA hatten das im letzten Jahr hinterfragt (Nat. Commun. 10: 4331). Aus sämtlichen Anträgen, mit denen sich zwischen 1990 bis 2005 Nachwuchsforscher auf ein biomedizinisches Stipendium der US-National Institutes of Health (NIH) beworben hatten, filterten sie 703 heraus, die knapp gescheitert waren – und stellten sie 656 anderen gegenüber, die gerade noch durchgekommen waren. Während die Autorinnen und Autoren von ersteren also zunächst einen Karriererückschlag verdauen mussten, erhielt die Gruppe der Bewilligten zum Durchstarten 1,3 Millionen US-Dollar Fördermittel für die nächsten fünf Jahre.

Wie sah es nun mit der „Exzellenz“ der beiden Gruppen aus? Zumindest in puncto „Publikationserfolg“ anders als erwartet! Nach den fünf Jahren hatten die „Erst-Enttäuschten“ mehr hochzitierte Artikel veröffentlicht als die Gruppe der „Gerade-noch-Stipendiaten“. Zehn Jahre später war die Schere noch weiter auseinandergegangen: Die einstmaligen „Loser“ hatten mit einer um 61 Prozent höheren Wahrscheinlichkeit hochzitierte Paper produziert als diejenigen, die damals zum NIH-Stipendium durchgeschlüpft waren. Ebenso sammelten sie mit ihren Artikeln um 34 Prozent mehr Zitate als letztere.

Spricht jetzt nicht direkt dafür, dass frühe wissenschaftliche Exzellenz die alleinige Voraussetzung für spätere Spitzenforschung ist. Allerdings lassen Wang et al. leider die folgende Frage offen: Verfassten die „erfolgreichen Verlierer“ ihre Top-Paper mehrheitlich zusammen mit den Senior-Wissenschaftlern, in deren Labors sie dann erstmal weiterarbeiteten – während die „glücklichen Gewinner“ sofort unabhängig arbeiten und zunächst einmal eigene Gruppen aufbauen mussten? Wäre das so, sind sicherlich völlig neue Schlussfolgerungen fällig.

Ralf Neumann

## Fokussiert

### MTA-Reformgesetz

### Heilpraktiker raus?

Seit 1993 regelt das „Gesetz über technische Assistenten in der Medizin“, kurz MTA-Gesetz, die Ausbildung und Zuständigkeiten der medizinisch-technischen Assistentinnen und Assistenten – und damit auch, wer ihre Arbeit, also Laboranalysen, durchführen darf. Was viele jedoch überraschen dürfte: Auch Heilpraktiker dürfen laut Gesetz Blut und Urin ihrer Patienten im Labor unter die Lupe nehmen. Verständlicherweise ist Ärzten dieser Ausnahme-Paragraph schon lange ein Dorn im Auge.

Im Detail geht es um Laboranalysen zur Diagnostik von Krankheiten, die laut MTA-Gesetz nur von ausgebildeten MTA durchgeführt werden dürfen. Aber was wäre eine Regel ohne eine Ausnahme? Zutritt zum Analyselabor haben nämlich auch Heilpraktiker und Zahnärzte. Michael Heins vom Berufsverband Deutscher La-

borergebnisse obliegt dann aber wieder den Heilpraktikern. „Ich bekomme vom Zentrallabor die Analyseergebnisse zugeschickt und interpretiere sie dann selbst“, bestätigt Kämper. Bei Fragen kontaktiere er aber auch schon mal die Laborärzte des Zentrallabors.

Heins sieht das jedoch kritisch und erklärt: „Theoretische Qualifikation und praktisches Wissen der Heilpraktiker reichen nicht aus, um Leistungen im medizinischen Labor anzuordnen und mit den Arbeitsergebnissen umzugehen.“

Kämper dagegen beteuert, dass alle künftigen Heilpraktiker sowohl die Methoden der Labordiagnostik kennen wie auch Ergebnisse interpretieren können müssen. Labordiagnostik stehe ganz oben im Curriculum wie auch im Katalog für die bundeseinheitliche Prüfung für Heilpraktiker.

Ob das vergleichbar ist mit der Ausbildung, die eine MTA absolvieren muss? Eher nicht. In seiner Stellungnahme schreibt der BDL sogar von einer „unzulässigen Benachteiligung“ von MTA gegenüber Heilpraktikern aufgrund ihrer „mehrjährigen, spezialisierten Ausbildung in Verbindung mit vergleichsweise hohen Prüfungsanforderungen“.

Im Gegensatz dazu ist die Ausbildung von Heilpraktikern überhaupt nicht geregelt. Von Vollzeit-Präsenz- bis Teil-

zeitkurse an einer Fernschule, von vier bis dreißig Monaten – alles ist möglich. Die Abschlussprüfung beim örtlichen Gesundheitsamt beinhaltet einen *Multiple-Choice-Test*, bei dem mindestens 45 von 60 Fragen richtig beantwortet werden müssen, und ein 30- bis 60-minütiges Gespräch mit einem Amtsarzt. In Österreich ist die Ausübung des Heilpraktikerberufs übrigens gesetzlich verboten.

Die angepeilte Reform des MTA-Gesetzes könnte aber auch tatsächliche Neuerungen mit sich bringen. So sollen MTA in Zukunft „Medizinische Technologinnen/Technologen“ heißen. Schließlich führen MTA ihre durchaus komplexe Arbeit ja selbstständig durch und assistieren nicht, wie es die Bezeichnung „Assistent(in)“ vermuten lässt. Für weit größere Freude dürfte jedoch die geplante flächendeckende Befreiung vom Schulgeld sorgen, was den einen oder die andere schon mal rund 15.000 Euro kosten konnte.

Kathleen Gransalke



Illustr.: AdobeStock / Molly Ferguson Art

borärzte (BDL) sagt dazu, dass diese Privilegien für Heilpraktiker im Zuge der Gesetzesreform jetzt endlich abgeschafft werden müssen. „Für den BDL ist klar: Heilpraktiker verfügen über keine den MTA vergleichbare Qualifikation. Es gibt keinen rationalen Grund für diese Sonderrechte.“ Das schreibt sein Berufsverband auch in einer Stellungnahme zum Referentenentwurf des MTA-Reformgesetzes.

Allerdings verschlägt es wohl kaum einen Heilpraktiker tatsächlich ins Labor. „Heilpraktiker können nicht Seite an Seite mit medizinisch-technischen Mitarbeitern im medizinischen Labor arbeiten“, so BDL-Vorstandsmitglied Heins. „Kein Laborarzt wird sie dafür einstellen.“

Ins Labor wollen sie auch gar nicht, sagt Siegfried Kämper, Vizepräsident des Bundes Deutscher Heilpraktiker. „Die meisten Heilpraktiker schicken ihre Proben an Zentrallabore für klinische Diagnostik und lassen sie dort analysieren“, erklärt er. Die Interpretation der La-

# Order 3, Get Your 4th Free

**99.5% of CST  
products are  
in-stock and  
ready to ship.**

**Buy 3 products and get the 4th  
one for free!** You're working hard to  
get your research projects back on  
track. Get the most out of your 2020  
research budget. The more you buy,  
the more you save!

Use code **GLBG20** when placing your order.  
Stock up now, this offer ends December 31.

\*TERMS & CONDITIONS: Offer applies to purchases of 3 qualifying catalog products or more, of which every 4th product is free from eligible locations. Free product must be of equal or lesser value to the lowest priced purchased product. Eligible locations: Algeria, Argentina, Austria, Australia, Bahrain, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Costa Rica, Croatia, Czech Republic, Denmark, Egypt, Estonia, Finland, France, Greece, Germany, Hungary, Iceland, India, Indonesia, Ireland, Israel, Italy, Jordan, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malaysia, Mexico, Morocco, Netherlands, New Zealand, Nigeria, Norway, Panama, Peru, Poland, Portugal, Qatar, Romania, Russian Federation, Saudi Arabia, Serbia, Singapore, Slovakia, Slovenia, Spain, South Africa, South Korea, Sweden, Switzerland, Thailand, Tunisia, Turkey, United Arab Emirates, United Kingdom, United States of America, and Uruguay. Expires December 31, 2020. No cash or cash equivalent. No substitutions. Offer may not be applied to existing, pending or prior orders. Promotion code GLBG20 must be referenced when placing an order in Europe. Promotion codes GLBG20, USBGC120, or USBGFS120 must be referenced when placing an order in the United States. Sampler Kits, PTMScan® HS Kits, PTMScan® Services, and Custom products or orders are excluded. Cannot be combined with any other promotions or discounts. Items that are not eligible, tax and shipping and handling charges will not be included in determining merchandise subtotal. Void if copied or transferred and where prohibited by law. Institutional discounts may still be applied to other items that are not eligible for this offer. CST retains the right to modify or stop the promotion at any given time without notice.



For full details visit: [www.cst-science.com/20-B3G4EU](http://www.cst-science.com/20-B3G4EU)



Cell Signaling  
TECHNOLOGY®

© 2020 Cell Signaling Technology, Inc., Cell Signaling Technology, and CST are trademarks of Cell Signaling Technology, Inc.

## Preise kompakt

» Die Max-Planck-Gesellschaft und Alexander-von-Humboldt-Stiftung verleihen dieses Jahr zwei Preise an Lebenswissenschaftler. Der Max-Planck-Humboldt-Forschungspreis geht an **Roberto Bonasio** von der Universität Pennsylvania (USA). Neben 80.000 Euro persönlichem Preisgeld erhält der Molekularbiologe 1,5 Millionen Euro für seine Forschung. Eines seiner Projekte soll Bonasio zukünftig am Universitätsklinikum Freiburg verfolgen, wo er ein eigenes Labor aufbauen wird. Der Preisträger möchte mit seinen Freiburger Kollegen Marco Prinz und Marc Timmers untersuchen, wie sich Gehirn und Epigenetik von Ameisenköniginnen und Arbeiterinnen unterscheiden.

Die Max-Planck-Humboldt-Medaille erhält **Luciano Marraffini** von der Rockefeller-Universität in New York. Der mit 60.000 Euro dotierte Preis ehrt Marraffinis Arbeiten zu CRISPR/Cas9. Er entdeckte, dass die Genschere nicht RNA, sondern DNA schneidet. Aktuell erforscht der Mikrobiologe, wie das Abwehrsystem bei Archaeen funktioniert.

» **Stefan Schreiber** untersucht an der Kieler Christian-Albrechts-Universität und dem Uniklinikum Schleswig-Holstein, wie Nicotinamid (eine Form des Vitamins B3) bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (zum Beispiel Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa) wirkt. Der Dachverband der europäischen Fachgesellschaften für Gastroenterologie „United European Gastroenterology“ verleiht ihm dafür ihren Forschungspreis mitsamt 100.000 Euro.

» Der mit 100.000 Euro dotierte Life Sciences Bridge Award geht an **Stefan Pfeffer** von der Universität Heidelberg, **Dominik Niopek** von der Technischen Universität Darmstadt und **Philipp Vollmuth** vom Uniklinikum Heidelberg. Der Preis soll den Forschern ermöglichen, Forschungsprojekte unabhängiger zu realisieren und sich für eine Vollprofessur zu qualifizieren. Pfeffer ermittelt mithilfe von Kryo-Elektronenmikroskopie die Struktur von makromolekularen Komplexen, Niopek designt Proteine, um beispielsweise CRISPR/Cas präziser und sicherer zu machen, und Vollmuth analysiert dank Künstlicher Intelligenz Gehirntumore. -JM-

# Frisch gefördert

## Michael-J.-Fox-Stiftung

### Schluss mit Parkinson

Die US-amerikanische Initiative *Aligning Science Across Parkinson's* bekommt Unterstützung aus Deutschland. Fünf Wissenschaftlerteams von den Universitäten in Frankfurt/M., Konstanz sowie San Diego wollen in den kommenden Jahren herausfinden, wie Mutationen im *LRRK2*-Gen bis zu zehn Prozent der Parkinson-Erkrankungen auslösen. Die Struktur des *LRRK2*-Enzyms haben die Gruppen bereits entschlüsselt, nun geht es an die Funktionsweise. Ko-Projektleiter sind **Stefan Knapp** (Frankfurt) und **Florian Stengel** (Konstanz). Das Vorhaben wird von der Michael-J.-Fox-Stiftung mit umgerechnet rund 6,1 Millionen Euro unterstützt.

## Carl-Zeiss-Stiftung

### Wie die biologische Uhr tickt



In Jena beginnt das neue Forschungsprojekt IMPULS (Identifizierung und Manipulation der physiologischen und psychologischen Uhren der Lebensspanne). Ein interdisziplinäres Forschungsteam der Friedrich-Schiller-Universität, des Leibniz-Instituts für Altersforschung – Fritz-Lipmann-Institut (FLI) und des Universitätsklinikums möchte aufklären, wie sich das biologische Alter definiert sowie bestimmen lässt und welche Faktoren Alterungsprozesse beeinflussen. Die Carl-Zeiss-Stiftung fördert das Projekt in den kommenden fünf Jahren mit rund 4,5 Millionen Euro. Sprecher ist der Molekulargenetiker **Christoph Englert** vom FLI.

Wer hat an der biologischen Uhr gedreht? Christoph Englert würde zumindest gerne. Foto: FLI/Nadine Grimm

## BMBF II

### Mikroplastik im Visier

Die Frage, ob Mikroplastik für neurodegenerative Erkrankungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Krebs mit verantwortlich ist, brennt Forschern seit Jahren unter den Nägeln. Das Problem bislang: Plastik im menschlichen Körper nachzuweisen, ist gar nicht so einfach. Ein Team aus Physikern, Biochemikern, Biologen und Pharmazeuten arbeitet deshalb an markierungsfreier Diagnostik für Mikroplastik. Initiator **Kristian Wende** vom Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie Greifswald hat zusammen mit Kol-

## BMBF I

### Uniklinik-Netzwerk

Sämtliche deutsche Universitätskliniken haben sich zum „Nationalen Netzwerk der Universitätsmedizin zu COVID-19“ zusammengeschlossen. Ziel des Netzwerks ist es, Daten, Erkenntnisse, Maßnahmenpläne, Diagnostik- und Behandlungsstrategien aller Unikliniken und gegebenenfalls anderer Akteure zusammenzuführen und auszuwerten. Das Netzwerk fokussiert sich dabei auf 13 Themen, die das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) mit insgesamt 150 Millionen Euro unterstützt und die auf der BMBF-Homepage aufgelistet sind.

Juliet Merz

**Mountain View,  
California**  
Clinical  
Manufacturing,  
Development

**4 PC Allendale,  
New Jersey**  
Clinical  
Manufacturing

**75 CD Allendale,  
New Jersey**  
Clinical and  
Commercial  
Manufacturing,  
Development

**Ottobrunn,  
Germany**  
Clinical and  
Commercial  
Manufacturing

**Munich,  
Germany**  
Development

**Yokohama,  
Japan**  
Clinical and  
Commercial  
Manufacturing,  
Development

formerly: 



## Creating future cell therapy miracles together

- Leading contract development and manufacturing organization (CDMO) for cell and gene therapies
- Experts in manufacturing clinical and commercial cell products
- More than 20 years' experience in all types of cells
- One of the first CDMOs to manufacture a commercial cell therapy
- More than 30 clean rooms across our expanding global sites

IM CORONA-GESPRÄCH: PETER KREMSNER, TÜBINGEN

# „Meine große Hoffnung ist, dass es mehr als einen Impfstoff geben wird“

Peter Kreamsner ist in Tübingen Professor an der Universität sowie Direktor am Universitätsklinikum und leitet die klinischen Studien zum Corona-Impfstoffkandidaten der Tübinger Firma CureVac. Im Interview ordnet er die aktuellen Geschehnisse rund um die Impfstoff-Entwicklung ein und verrät, wann wir mit einem Impfstoff rechnen können.

**Laborjournal:** Aktuell sind 42 Impfstoff-Kandidaten in klinischen Studien [Stand 8.10.20]. Welche unterschiedlichen Strategien stehen hinter den Impfstoff-Kandidaten und wer hat im Rennen aktuell die Nase vorn?

**Peter Kreamsner** » Es gibt sehr viele Ansätze bei der Impfstoff-Entwicklung für COVID-19 – wie ich hörte, etwa dreihundert unterschiedliche. Diese reichen von Nukleinsäure-Ansät-

zen – vor allem mRNA-Impfstoffe – auch über Protein-Impfstoffe, die adjuvantiert, also mit Hilfsstoffen versehen sind. Und es gibt Ansätze, die auf viralen Vektoren basieren, zum Beispiel das modifizierte Vaccinia-Ankara-Virus, das Masernvirus, das Vesicular-Stomatitis-Virus oder das Adenovirus. In all diese Vektoren bauen Forscher Antigene vom SARS-Coronavirus-2 ein, eigentlich fast immer und überall das gleiche, nämlich das virale Spike-(S)-Protein. Und auch bei den mRNA-Impfstoffen wird mRNA vom S-Antigen in die menschlichen Zellen eingeschleust. Im Wesentlichen kann man sagen, dass sich die Ansätze kaum unterscheiden: Es ist überall das Gleiche drin, nämlich im Wesentlichen, was Anfang Januar chinesische Kollegen im Netz veröffentlichten: die erste Sequenz vom SARS-Coronavirus-2 und hiervon das S-Antigen. Der Inhalt wird nur in unterschiedlicher Art und Weise verpackt.

Doch die meisten Kandidaten werden wahrscheinlich nur eine Idee bleiben und in der präklinischen Phase versanden. Aber seit Veröffentlichung der Sequenz mischen alle mit – von den großen Pharmakonzernen über mittlere Betriebe bis hin zu kleinen Laboren.

**Mitte Juni haben auch Sie begonnen, den mRNA-basierten SARS-CoV-2-Impfstoff von CureVac in einer klinischen Phase-1-Studie zu testen. Was ist seitdem passiert und wo stehen Sie jetzt?**

**Kreamsner** » Mittlerweile arbeiten wir vom Deutschen Zentrum für Infektionsforschung auch mit dem Pharmaunternehmen IDT Biologika zusammen und beginnen demnächst in Hamburg eine Phase-1-Studie

mit ihrem MVA-Impfstoff-Kandidaten. Außerdem haben wir noch zwei, drei weitere Kandidaten, die wir Anfang nächstes Jahr prüfen werden. Mit CureVac haben wir jetzt [8.10.20] die Rekrutierung für die Phase-1-Prüfung fast abgeschlossen, in welcher der Impfstoff das erste Mal Menschen verabreicht wurde. Möglicherweise folgt noch eine weitere Dosis-Eskalation, aber dann sind wir mit der Rekrutierung der Probanden durch. Diese beobachten wir nach den Impfungen noch für ein Jahr.

**Wie läuft so eine Dosis-Eskalation ab?**

**Kreamsner** » Wir haben mit einer sehr niedrigen Dosis, nämlich 2 Mikrogramm, angefangen und diese dann langsam gesteigert – auf 4, auf 6, dann 8 und 12 Mikrogramm. Jetzt sind wir bei 16 Mikrogramm. Mit dieser Dosis-Erhöhung um den Faktor zehn prüfen wir die Verträglichkeit und Sicherheit des Impfstoffes. Treten im Vergleich zu den Placebo-Rezipienten irgendwelche Nebenwirkungen bei den Subgruppen auf? Gleichzeitig haben wir die Immunogenität im Auge. Wie reagiert das Immunsystem auf die Impfung? Da

---

»Auf Seiten der Wissenschaftler, Ärzte, Förderer und Behörden läuft die Arbeit in einem enormen Tempo ab.«

---

werfen wir einen Blick auf verschiedene Antikörper und durch die Impfung induzierte, zelluläre Immunabwehrmechanismen. Das alles und die Ergebnisse aus der Phase-2-Studie, die vergangene Woche begonnen hat und in die wir auch ältere Probanden mit einbeziehen, hilft uns bei der Entscheidung, mit welchem Dosis-Schema wir in die Phase 3 gehen. Diese startet voraussichtlich Anfang November.

**Das geht also alles ziemlich schnell. Wie lange dauert es, einen Impfstoff zu entwickeln?**

**Kreamsner** » In der Regel zehn, eher zwanzig Jahre, bis man von der Idee zu einem fertigen, zulassungsfähigen Impfstoff kommt. Jetzt läuft das alles wahrscheinlich innerhalb eines Jah-



Foto: UK Tübingen

# Für die Entwicklung der Therapien von morgen

## COVID-19 Lösungen für Ihre Forschung

Wissenschaft und Forschung sind entscheidend, um das Coronavirus (SARS-CoV-2) besser zu verstehen. Lösungen für die Therapie und Impfung basieren auf diesen Ergebnissen. Mit dem umfassenden Portfolio von BD wird die COVID-19 Forschung in den folgenden Bereichen ermöglicht.



Virale Immunantwort



Zytokin-Analyse



Impfstoff-Forschung



Biomarker und Therapeutika

Sie suchen nach hilfreichen Ideen und innovativen Lösungen für Ihre COVID-19 Forschung?

Erfahren Sie mehr zu Protokollen und Antikörper Panel für die Multicolor-Durchflusszytometrie in der Immunologie und COVID-19 Forschung in unserem interaktiven BDB eBook.



## COVID-19 in der Patientenversorgung

In zahlreichen Publikationen ist erwiesen, dass die Schwere des Krankheitsverlaufs bei COVID-19 typischerweise mit der spezifischen Abnahme der Anzahl der T-Lymphozyten Subpopulationen einhergeht. Dies ist eine wertvolle Erweiterung zum Wohl der Patienten.



Sie möchten Informationen zum Immunstatus, die das standardmäßige Blutbildmonitoring der Patienten ergänzen? Das BD Multitest™ 6-Farben-TBNC-Reagenz (CE-IVD) ermöglicht die quantitative Bestimmung der Lymphozyten Subpopulationen.



Besuchen Sie unsere Webseite und erfahren Sie mehr: [bdbiosciences.com/en-eu](https://bdbiosciences.com/en-eu)

**Nutzen Sie unsere Expertise! Unser BD Biosciences Flow Support Team ist für Sie da.**

Deutschland: +49 6221 305 212

Österreich: +43 1 706 36 60 29

Schweiz: +41 61 485 22 95

E-Mail: [flow.support@bd.com](mailto:flow.support@bd.com)

BD und das BD Logo sind Marken der Becton, Dickinson and Company. © 2020 BD und BD-Tochtergesellschaften. Alle Rechte vorbehalten.





Mit Hochdruck arbeitet die Tübinger Firma CureVac an der Entwicklung eines SARS-CoV-2-Impfstoffes.  
Foto: CureVac

res ab, bis die ersten ernstzunehmenden Impfstoff-Kandidaten fertig sind. Anfang Januar erlöste mit Veröffentlichung der Virussequenz der Startschuss für die Impfstoff-Entwicklung. Die ersten Kandidaten wurden dann im Sommer in China und Russland zugelassen. Aber es ist zu bezweifeln, dass alle Etappen, die für eine Zulassung international eigentlich geltend gemacht werden sollten, adäquat eingehalten wurden. Allerdings darf ich nichts dazu sagen, denn ich kenne die Daten nicht, lediglich das Wenige, was veröffentlicht wurde. Und ich fürchte, dass in den USA Ähnliches passieren wird, weil Herr Trump wiedergewählt werden will. Ich befürchte, dass wir in der nächsten oder übernächsten Woche erste überstürzte Zulassungen in den USA haben – auf die Daten bin ich dann mal gespannt.

*Wie wird die Entwicklung eines Impfstoffs hierzulande beschleunigt, ohne die Sicherheit zu beeinträchtigen?*

**Kremsner** » Das ist jetzt das Kunststück. In der Regel ist es so: Die Phasen 1 und 2 der klinischen Prüfungen werden in von der Anzahl überschaubaren Probandengruppen durchgeführt. Die Phase-3-Prüfung erfolgt dann multizentrisch und weltweit, um über die *European Medicines Agency* in Amsterdam eine Marktzulassung für alle 27 Mitgliedsstaaten der EU zu bekommen. Das läuft auch jetzt so, soweit ich das beurteilen kann, und ganz bestimmt bei den Projekten, an denen ich beteiligt bin. Die internationalen Regularien werden alle eingehalten – da wird nichts übersprungen oder überhastet gemacht.

Allerdings läuft auf Seiten der Wissenschaftler und Ärzte einerseits und auf Seiten der Förderer und Behörden andererseits die Arbeit in einem enormen Tempo ab. Zusätzlich fließt für die Entwicklung viel Geld, und das besonders schnell. Es ist schier unglaublich. Wir wünschen uns bei der Malaria, dass wir da jemals

auch nur einen kleinen Anteil von dem kriegen, was jetzt für COVID-19 rausgehauen wird. Dann hätten wir längst einen Impfstoff – aber das nur am Rande.

Bei COVID-19 ist es außerdem so, dass wir sehr eng mit den Zulassungsbehörden in Deutschland und Europa zusammenarbeiten, und diese sehr, sehr schnell und effizient arbeiten. Auch die Ethikkommissionen begutachten die Anträge äußerst fix, sodass es da zügig zu Bewilligungen kommt. Der Begutachtungsprozess für die ersten Therapieansätze für COVID-19-Studien, die wir im März eingereicht hatten, hat uns zwei Tage gekostet, von der Einreichung des fertigen klinischen Protokolls über die Bewilligung bis zum Start der Studie – sonst dauert das sechs, häufig neun Monate oder mehr.

*Wenn Geld keine Rolle spielt, bietet es sich auch an, klinische Prüfungen parallel laufen zu lassen, richtig?*

**Kremsner** » Ja, das stimmt. Das kann man machen und ist auch sinnvoll. Bei einem Impfstoff kann die Phase 2 schon beginnen, wenn die Phase 1 noch läuft. Das wäre auch sonst ein Weg, der beschränkt wird. Wichtig ist, dass man zu Beginn der sehr aufwendigen Phase 3 – der Zulassungsstudie, die eine Placebo-kontrollierte, multizentrische, randomisierte und doppelverblindete Studie ist – das ideale Dosischema fertig hat. Denn hier kann man dann nicht mehr nachbessern, ohne wieder von vorne anfangen zu müssen.

Prinzipiell könnte man in der klinischen Phase 2 auch schon die Wirksamkeit des Impfstoffes prüfen. Das macht aber bei den SARS-Coronavirus-2-Impfstoffen niemand, weil alles so schnell gehen muss.

*Darauf konzentrieren sich die Entwickler dann in Phase 3?*

**Kremsner** » Genau. Deshalb ist es wichtig, dass die Prüfung in Ländern stattfindet, in denen es sehr viele COVID-19-Patienten gibt. Finnland würde sich beispielsweise nicht eig-



We provide:  
**Starting material for mRNA vaccines in large quantities!**



**The better way to DNA**

Customized *minicircle* & plasmid production  
High Quality Grade DNA for GMP production of viral vectors and RNA Helper & Packaging plasmids for AAV production *In Stock*  
QC including CGE service for topology analysis

**PlasmidFactory.com**

nen – höchstens, um die Sicherheit und Verträglichkeit des Impfstoffes zu testen. Aber in Südamerika, den USA und jetzt auch Regionen in Europa wird man ausreichend COVID-19-Fälle in der Placebo-Gruppe haben, um im Vergleich zur Verum-Gruppe Wirksamkeit einzuschätzen. So können die Studien unter Umständen schon schnell innerhalb von Monaten die Wirksamkeit zeigen.

Im Anschluss geht es darum, eine Zulassung oder wenigstens eine bedingte Zulassung zu bekommen, die es in der EU auch gibt.

#### Eine bedingte Zulassung?

**Kremsner** » Bei einer bedingten Zulassung wird der Impfstoff vorerst nur beispielsweise Erwachsenen einer bestimmten Altersgruppe empfohlen. Dabei laufen Studien im Hintergrund weiter, um handfeste Daten mit mehr Signifikanz hinzukriegen. Diesen Fall haben wir nicht nur bei der Impfstoff-Entwicklung, sondern auch bei der COVID-19-Therapie. Denn wir haben immer noch kein zufriedenstellendes Therapeutikum – inklusive Remdesivir, das aus meiner Sicht etwas gar schnell zugelassen wurde. Ich hätte gerne noch mehr überzeugende Daten dafür gesehen.

#### Was meinen Sie damit?

**Kremsner** » Im Fall von Remdesivir waren die Effekte zwar signifikant, aber eben nur in einer einzigen Studie. Andere Studien konnten das nicht zeigen. Insofern ist das sehr früh, so etwas zuzulassen. Weiters wurden viele Daten noch nicht veröffentlicht. Und obendrein ist das Medikament noch äußerst teuer, bei ei-

»Ich denke, im Winter wird es so weit sein, dass der erste Impfstoff auch in Europa eine Zulassung bekommt.«

ner Wirksamkeit, die laut aktueller Studienlage allenfalls marginal ist. Das müssen wir mit dem Impfstoff besser hinkriegen. Ich hoffe, dass dieser nicht vorschnell zugelassen wird, wenigstens nicht in Europa.

#### Befürchten Sie das?

**Kremsner** » Ich befürchte es nicht, aber Remdesivir zeigt mir, das die Notlage groß ist. Nicht, dass die Zulassung jetzt vollkom-

men falsch ist, aber zu einer anderen Zeit hätte man Remdesivir in meinen Augen noch nicht zugelassen. Die Daten, die für jemanden wie mich einsehbar sind, wirken äußerst bescheiden. Da wundere ich mich. In den USA wurde es schon Monate vorher zugelassen, doch da wundert mich nichts mehr. Aber vielleicht gibt es noch mehr überzeugende Daten, die ich nicht einsehen kann, dann ist es ja gut.

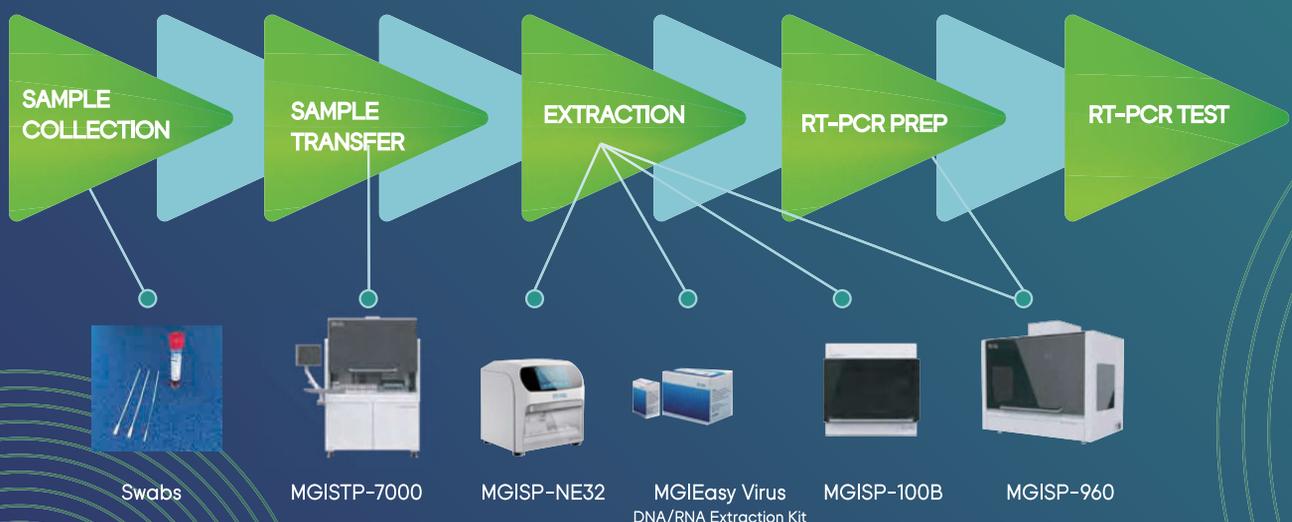
Ich hoffe jedenfalls, dass wir diesen Balance-Akt bei der Impfung besser hinkriegen. Dass mindestens 5.000 bis 10.000 Probanden die Impfung gekriegt haben und dass sie über einen längeren Zeitraum nach der Impfung auf Nebenwirkungen nachuntersucht wurden. Nur so bekommen wir statistisch handfeste Daten, die hoffentlich auch die Wirksamkeit in Placebo-kontrollierten Studien zeigen. Nur dann würde ich einen Impfstoff zulassen. Aber was heißt „ich“ – ich hoffe, dass die Behörden das so machen werden. [Lacht]

#### Wann können wir mit einem Impfstoff rechnen?

**Kremsner** » Ich denke, im Winter wird es so weit sein, dass der erste Impfstoff auch in Europa eine Zulassung bekommt. Viele Din-

## MGI SARS-CoV-2 – Automatische Extraktion und Probenvorbereitung

# SARS-CoV-2 Testing Workflow



Für weitere Informationen kontaktieren Sie bitte Ihre lokalen Ansprechpartner:

 Nicole Lehmann  
 nlehmann@bgi.com  
 +49 151 466 57 946

und

 Knut Hamann  
 knut.hamann@genomics.com  
 +49 176 478 784 39

ge werden ja nur indirekt über die Tagespresse veröffentlicht, deshalb weiß ich nicht mehr als jemand, der Zeitung liest. Doch laut einigen Medien gibt es ja die ersten Einreichungen zur Zulassung. Und es gibt das rollende Zulassungsverfahren, das heißt, Sponsoren dürfen die Daten schon einreichen, auch wenn sie noch nicht ganz vollständig sind – und der Prozess kann beginnen. Das Zulassungsverfahren wird dann mit immer mehr Daten gefüttert, bis genug Fakten zur Sicherheit, Verträglichkeit und Wirksamkeit da sind.

*Wenn wir jetzt im Winter schon einen Impfstoff bekommen – wie wird die Verteilungssituation dann wohl aussehen?*

**Kremsner** » Meine große Hoffnung ist, dass es mehr als einen Impfstoff geben wird – und das glaube ich auch. Und dass wir dann nicht das Hauen und Stechen beginnen, wer den Impfstoff nun als Erster kriegt. Sondern dass wir Preise haben werden, die weltweit irgendwie leistbar sind. Stellen Sie sich vor, nur eine Firma hat einen tauglichen Impfstoff, die können dann eine Preispolitik veranstalten wie beim HPV-Impfstoff, dem Impfstoff gegen das Humane Papillomvirus. Und das wäre jetzt in dieser Notlage noch schlimmer. Ich hoffe deshalb inständig, dass es mehr Impfstoffe geben wird. Zwei gibt es ja schon: den russischen und den chinesischen. Beide basieren auf Adenoviren, genauso wie der, der gerade von AstraZeneca mit der Universität Oxford entwickelt wird. Den könnte es bald geben. Biontech und Moderna sind mit ihren Kandidaten ebenfalls auf der Zielgeraden.

*Und CureVac...?*

**Kremsner** » Ich denke, dass wir bald nachziehen werden. Hoffentlich werden im Winter noch viele weitere Impfstoffe gute Phase-3-Daten generieren, sodass wir im Laufe des nächsten Jahres im besten Fall durchaus fünf bis zehn ernstzunehmende Impfstoffe haben werden. Dann wird sich unsere überhitzte Lage beruhigen. Außerdem könnten sich so nicht nur reiche Europäer impfen lassen, sondern ebenso Menschen auf anderen Kontinenten. Denn wenn wir gegen COVID-19 vorgehen wollen, schaffen wir das nur weltweit und konzertiert. Die EU könnte da als gutes Beispiel vorgehen und nicht gewisse Fehler vom Beginn der Pandemie wiederholen.

*Was meinen Sie genau?*

**Kremsner** » Zum Beispiel, dass wir die inhereuropäischen Grenzen aus nicht nachvollziehbaren Gründen geschlossen haben. In solch einer Situation darf man nicht auf nationaler Ebene handeln, sondern muss sich international abstimmen. Es wird auch zukünftig national Regionen geben, wo viele Infektionen vor-

kommen, wie beispielsweise aktuell in Esslingen bei mir ums Eck. Solche Gebiete sollte man eher eingrenzen, und nicht ganze Länder wie im Frühling Dänemark oder Polen. Das war nur Schwachsinn. In den Hospitalskorridoren im Elsass, in Straßburg und Colmar, sind die Menschen gestorben, und wir haben hier fünfzig bis einhundert Kilometer entfernt unsere Intensivbetten aufbewahrt für etwas, das vielleicht kommen würde, aber nicht kam. Jedoch nicht nur in Deutschland, auch die Österreicher und andere haben den Italienern und Franzosen nicht geholfen oder erst sehr spät. Das darf nicht sein. Wir müssen zusammenhalten, in der EU und letztlich der ganzen Welt. Wir sollten nicht in den Fehler verfallen, dass wir diese Pandemie nur national bekämpfen könnten. Das ist der größte Blödsinn überhaupt.

---

*»Die Impfstoff-Kandidaten werden alle separat getestet – was ein Wahnwitz ist.«*

---

*Im Interview mit der Zeit vom 6.10. sprach der Charité-Virologe Christian Drosten davon, dass der erste Impfstoff möglicherweise nicht perfekt sei und dass das kommuniziert werden müsse. Er spricht etwa von Nebenwirkungen, die einer Impfpflicht für Jüngere, die nicht so schwer erkranken, im Weg stehen. Was können wir von einem Impfstoff erwarten?*

**Kremsner** » Ich weiß nicht, was Christian Drosten da genau gemeint hat. Natürlich ist es ideal, dass alles veröffentlicht wird – das ist eigentlich das Ziel von uns Wissenschaftlern. Das ist aber nicht immer das Ziel der Hersteller, wie wir wissen. Und wir kriegen jetzt mit, dass in China und Russland nicht alles veröffentlicht wird – und wie es in den USA aussieht,

na ja, da können wir auch nur mutmaßen. Insofern wäre die Idee schon durch Veröffentlichungen eine Transparenz herzustellen, so dass wir auch Vergleiche ziehen können. Zum Beispiel, indem man die Impfstoffe möglichst vergleichend testet. All das geschieht nicht, die Impfstoff-Kandidaten werden alle separat getestet – was ein Wahnwitz ist. Jeder macht seine Studie mit 30.000 Probanden und setzt damit viele einem großen Risiko aus. Aktuell werden so auch Impfstoffe vorangetrieben, die es aus Unverträglichkeitsgründen oder mangelnder Wirksamkeit nicht schaffen werden.

*Was wäre eine Alternative?*

**Kremsner** » Ein humanes, kontrolliertes Infektionsmodell für SARS-CoV-2, bei dessen Etablierung ich im Komitee der Weltgesundheitsorganisation dabei war, das allerdings noch nicht einsatzbereit ist. So könnte man Impfstoffe in kleinen Gruppen gegeneinander sehr rasch testen, um dann wenigstens die Wirksamkeit zu beurteilen. Kandidaten, die kaum oder gar nicht wirken, scheiden dann direkt aus, mit denen muss man dann bitte nicht 30.000 Probanden impfen. Doch aktuell werden viele Studien durchgeführt und auch viele Menschen geimpft. Es gibt jetzt vier bis fünf schon laufende Studien, bei denen wir noch nicht genau wissen, wie sie ausgehen – da kann dann auch noch was schiefgehen. Wenn wir weltweit etwas erreichen wollen, dann brauchen wir einen Impfstoff, der sehr gut wirkt, der nicht nur einen schweren Krankheitsverlauf verhindert, sondern am besten gleich die Infektion, bevor sie passiert. Und am Schluss müssen wir möglichst alle impfen, vom Neugeborenen bis zum Greis. Das muss das Ziel sein, wenn wir COVID-19 wieder loswerden wollen. Aber das werden wir mit dem ersten Aufschlag, mit den ersten Impfstoffen wahrscheinlich nicht gleich schaffen.

*Gespräch (8.10.2020): Juliet Merz*



# Flexible Mikroplattenreader für die Virologieforschung

## Omega Serie

- Reporter-Gen-Assays
- Immunoassays - ELISA
- DNA-/RNA-Quantifizierung



## SPECTROstar® Nano

- A260 DNA-/RNA-Quantifizierung
- Protein-/Cytokin-Quantifizierung
- MTT, MTS, WST Assays



## CLARIOstar® Plus

- Lebendzellmessungen
- Bestimmung von CPE und TCID50
- Virusnachweis mit LAMP-Assay

## PHERAstar® FSX

- Screening antiviraler Wirkstoffe
- Protein-Protein Interaktionsassays
- Bestimmung von Antigenbindung und -affinität

30 YEARS

[www.bmglabtech.com](http://www.bmglabtech.com)

**BMG LABTECH**  
The Microplate Reader Company

# Nützlich, lästig, idealisiert

*Mathematik und Biologie gehören zusammen – und das nicht erst, seitdem Genomprojekte riesige Datenmengen generieren. Nein, auch weil mathematische Modelle die komplexe Biologie oftmals sinnvoll vereinfachen können. Der Blick über den Tellerrand lohnt sich also.*

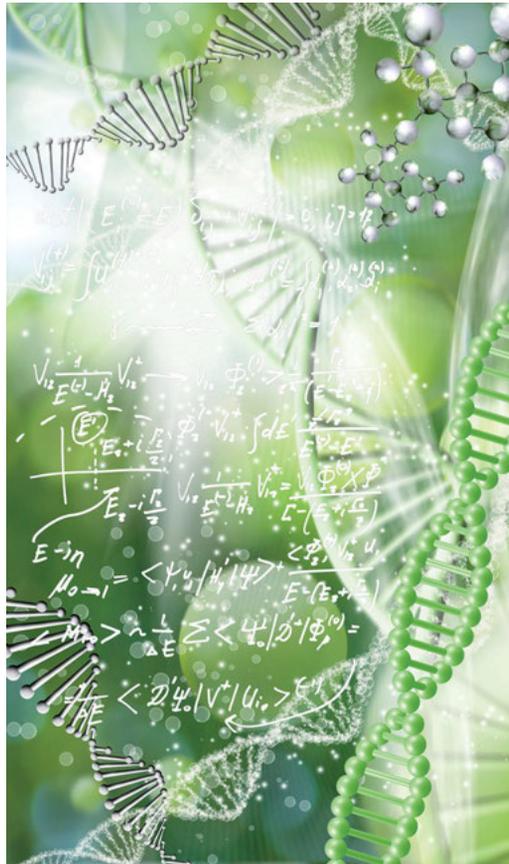
„Mathematik für Biologen und Mediziner“ – so oder ähnlich heißt manch eine Pflichtveranstaltung der ersten Semester. Nicht für alle Studierenden sind die zugehörigen Vorlesungen, Übungen und Klausuren die reinste Freude. Da mag sich der künftige Entwicklungsbiologe frustriert fragen, warum er mit Integralen und Differenzialgleichungen gequält wird. Oder die angehende Ärztin, die Leben retten und Menschen beim Gesundwerden helfen will und jetzt den Kopf schüttelt, weil sie erstmal mathematische Beweisführung zu beherrschen hat.

Andererseits flirtet die Biologie spätestens seit dem 19. Jahrhundert mit der Mathematik. Mal als schlichtes Werkzeug für die statistische Auswertung – mal, um wunderbar elegante Modelle zu liefern. Und heute, in Omics-Zeiten, ist eine Biologie ohne Mathematik gar nicht vorstellbar. Zwischen Bioinformatik, der Jagd nach kleinen p-Werten und Voraussagen über pharmakologische Effekte neuer Wirkstoffkandidaten sind die Lebenswissenschaften ständig angewiesen auf Input aus der Mathematik. Manchmal, weil es einfach keine Alternative gibt beim Umgang mit der Datenflut, manchmal aber auch, weil die Modellierer echte Wege zum Verständnis biologischer Prinzipien anbieten können. Somit stehen Biologie und Mathematik wohl irgendwo zwischen Liebesheirat und Zwangsehe.

Welche Chancen ein anschauliches Modell bieten kann, zeigte in den 1860er-Jahren ein erbsenzählender Mönch: Ohne irgendetwas über Chromosomen oder gar Gene zu wissen, stellte Gregor Mendel seine drei Regeln zur Vererbung auf. Seine Statistiken zu den Verteilungen der verschiedenen Merkmale in den Folgegenerationen waren verdächtig nahe an den Erwartungswerten, sodass ihm im Nachhinein gar Betrug vorgeworfen wurde. Wahrscheinlich aber hatte Mendel schon vor Beginn der Erbsenstudien einfach eine gute Intuition und unterlag daher einem gewissen Bias bei der Auswertung (mehr hierzu in *Science* 350: 159-60).

## Vereinfachung erwünscht

Wäre Mendel weniger voreingenommen gewesen, hätte er vielleicht schon gekoppelte Merkmale erkannt und somit gewissermaßen die Chromosomen als Träger der Erbmerkmale entdeckt. Doch auch wenn sein Modell



Illustr.: AdobeStock / cooper

sehr simpel gestrickt scheint, so nimmt es doch vorweg, was Zellbiologen und Genetiker erst im Lauf des folgenden Jahrhunderts aufklären sollten: Die Rekombination der Chromosomen während der Meiose und die Existenz vererbbarer Einheiten im Organismus, die in doppelter Ausführung vorliegen (glücklicherweise war sein Modellorganismus nur diploid). Längst kennen wir Transkription, Translation und sind nun gar bei der Epigenetik angelangt. Und doch sind Mendels Regeln noch immer hilfreich. Es scheint also weniger um die Frage zu gehen, ob ein Modell „richtig“ oder „falsch“ ist, sondern was man damit anfangen will.

So gesehen ist Vereinfachung also sogar erwünscht. „Das ist etwas, womit Biologen oft ein Problem haben“, stellt Philipp Messer als Quereinsteiger aus der Physik fest. Denn je näher ein Modell der Realität kommt, desto mehr Annahmen fließen dort ein. Grundprinzipien verschwinden dann hinter der Komplexität – und letztlich braucht man das Modell gar nicht, weil man dann auch gleich direkt ins natürliche System schauen kann. „Genau das ist die ewige Herausforderung“, erklärt Messer und

fragt: „Für welche Vorhersagen macht es überhaupt Sinn, einen Spezialfall zu berücksichtigen? Und würde dieser Spezialfall wirklich die grundlegenden Vorhersagen ändern?“

Messer war schon während seines Physik-Studiums an der Uni Köln von der Biologie fasziniert. Nach seiner Doktorarbeit am Berliner Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik ging er in die USA und leitet heute eine Arbeitsgruppe am *Department of Computational Biology* der *Cornell University*. „Heute sehe ich mich nicht mehr wirklich als Physiker“, blickt Messer auf seinen Lebenslauf zurück, der seit mehr als 15 Jahren von Arbeiten zur Populationsgenetik geprägt ist. „Was ich wohl mitgenommen habe aus der Physik, ist die Denkweise.“

Historisch ist die Mathematik den Biologen gar nicht so fremd, wie man meinen möchte, legt Messer dar: „Die Populationsgenetik fing an als theoretische Wissenschaft.“ Ronald Fisher, Sewall Wright und John Haldane seien „die alten Herren dieser Disziplin“, die mit ihren Modellen zu Allelen in Populationen diploider Organismen wichtige Grundsteine legten. „Das sind Arbeiten aus den Zwanziger-, Dreißiger- und Vierzigerjahren des neunzehnten Jahrhunderts.“

## Kaum Überprüfung an der biologischen Realität

Aus den 1920er-Jahren stammen auch die Lotka-Volterra-Gleichungen, die das gegeneinander versetzte periodische Schwanken zwischen Räuber- und Beutepopulationen beschreiben. Bereits 1908 wandte Godfrey Hardy Mendels Überlegungen auf Populationen an (*Science* 28: 49-50) – und heute gilt das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht als Lehrbuchformel, um die Verteilung von Allelen in einer idealisierten Population sowie den Anteil homo- und heterozygoter Individuen zu berechnen.

„Das war alles sehr mathematisch, und es gab kaum eine Überprüfung an der biologischen Realität“, fasst Messer zusammen. Die Siebziger- und Achtzigerjahre seien dann geprägt gewesen durch die sogenannte neutrale Theorie der molekularen Evolution, eingeführt von Motoo Kimura. Hierbei geht man davon aus, dass die meisten Polymorphismen innerhalb einer Population weder vorteilhaft noch nachteilig sind. Mutationen sind also in der Re-

gel neutral. „Allein rein zufällige Schwankungen bewirken, dass der eine Polymorphismus irgendwann verschwindet und ein anderer fixiert wird“, beschreibt Messer die Grundannahme und ergänzt, dass die neutrale Evolution bis vor rund 15 Jahren als *das* Paradigma der Populationsgenetik galt. „Mit diesem Modell konnte man wunderbar rechnen – doch lange Zeit gab es dazu überhaupt keine Daten!“

Mit der Revolution der Sequenziermethoden hat sich das aber geändert. „Jetzt können wir rausgehen und wirklich mal eintausend Genome aus einer Population sequenzieren“, freut sich Messer. Doch die Gendrift, also die Veränderung der Allelfrequenzen innerhalb einer Population, folgt eben nicht Kimuras Annahmen, wie der Blick auf die biologischen Daten zeigt. „Heute wissen wir, dass es viel komplizierter ist“, so Messer, „anscheinend wirkt doch viel mehr Selektion, als man gedacht hatte.“

Inzwischen ist sich Messer sicher, dass Evolution nicht bloß ein langfristiger Prozess ist, der über Jahrtausende stattfindet. „Das kann unheimlich schnell passieren, innerhalb von Tagen oder Wochen“, schlussfolgert er beispielsweise aus Beobachtungen zur Entwicklung von Resistenzen gegen Pestizide oder Antibiotika. Trotzdem sei das neutrale Modell noch immer äußerst hilfreich. „Es ist praktisch unser Nullmodell, mit dem wir Beobachtungen vergleichen können.“

## Die interessanten Probleme

Auch Arne Traulsen ist eigentlich Physiker. Er leitet die Abteilung für Evolutionstheorie am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie in Plön. Offenbar sind es eher Physiker und Mathematiker, die den Weg an ein biologisch ausgerichtetes Institut finden als umgekehrt. „In der Biologie liegen schlichtweg die interessanten Probleme“, erklärt Traulsen.

Traulsens Expertise liegt in der Spieltheorie – einer Disziplin, die sich von jeher nicht um „Genre-Grenzen“ schert. Die Grundidee: Interaktionen zwischen zwei Individuen betrachtet man vereinfacht als ein Spiel. Einer kann gewinnen, der andere verlieren; es können aber auch beide Spieler mit Verlust oder beide mit Gewinn nach Hause gehen. Der Gewinn kann eine Futterressource, ein Paarungspartner oder Geld sein. Und jeder Spieler wählt eine bestimmte Strategie, die zum Beispiel kooperativ oder kompetitiv ist – oder bei mehreren Spielrunden auch nachtragend oder verzehrend sein kann.

Klar, dass sich auch Wirtschaftswissenschaftler und Psychologen in der Spieltheorie austoben. Und selbstverständlich ist das Feld von Mathematik geprägt. Doch da man Strategien auch so modellieren kann, dass sie als Allel codiert sind und sich weitervererben, kann

das Spiel auch einfach um Fitness und somit die Anzahl der Nachkommen laufen. Und Nachkommen erben natürlich auch die Strategien ihrer Vorfahren – womit die Spieltheorie letztlich auch bei Evolutionsbiologen und Populationsgenetikern auf Interesse stößt.

## Biologen beherrschen experimentelles Design

Nun könnte man die Physiker darum beneiden, dass sie in ihren Versuchen relativ leicht Störfaktoren ausschalten können: Mal eben ein Vakuum herstellen, damit die Luft nicht stört; ein Gas auf knapp über den absoluten Nullpunkt herunterkühlen, um Eigenbewegungen der Teilchen gering zu halten; oder gar den Weltraum als ideales Labor nehmen, wo Objekte frei von Reibung umeinander kreisen oder frei fallen. In der Biologie klappt das natürlich nicht.

Doch Traulsen stellt klar: „Worin die Biologen extrem gut sind, das ist die Wissenschaft vom experimentellen Design.“ Kontrollversuche, doppelte Verblindung oder Placebogruppen dienen schließlich genau dazu, eine spezielle Variable zu isolieren. „Ein Physiker hingegen lernt im Studium eigentlich nicht wirklich, was eine Kontrolle ist.“

Traulsen legt aber ebenso Wert auf eine gewisse Eigenständigkeit der theoretischen Biologie. Auch wenn ein mathematisches Modell kein echtes biologisches System abbildet oder sich nicht experimentell überprüfen lässt, könne man daraus dennoch Erkenntnisse ableiten. „Man sollte den Mathematiker jetzt nicht stoppen, nur weil er der Biologie nicht mehr dient“, mahnt Traulsen. „Denn Wissenschaft ist mehr, als bloß Aktien zu kaufen, die gerade steigen.“

Wie fundamental eine auf den ersten Blick simple Annahme schließlich sein kann, zeigt die logistische Gleichung. Die hatte der Belgier Pierre François Verhulst 1838 vorgestellt, um das Wachstum menschlicher Populationen zu beschreiben. Diese simple rekursive Folge gibt an, wie man die Populationsgröße der jeweils nächsten Generation berechnet – unter der Annahme, dass es einen Faktor für Reproduktion und Sterben gibt (der nicht kleiner als 1 sein sollte, denn sonst stirbt die Population aus), sowie eine Obergrenze. Je näher die Population an der Obergrenze liegt, desto mehr schrumpft sie in der folgenden Generation.

Eineinhalb Jahrhunderte später kam die Komplexitätsforschung und mit ihr die sogenannte „Chaostheorie“. Und in der logistischen Formel entdeckte man periodische Zyklen und nicht vorhersagbares Verhalten ebenso wie fraktale Strukturen. Über die logistische Gleichung und deren Grenzwerte kann man, verallgemeinert auf komplexe Zahlen, letztlich auch die Mandelbrotmenge erzeugen und das be-



**CANDOR – Originator of LowCross-Buffer<sup>®</sup>**

- innovative solutions
- highest quality standards
- expert technical support

**for optimizing reliability of your immunoassays**

rühmte „Apfelmännchen“ vom Computer zeichnen lassen.

Was mit einer biologischen Fragestellung beginnt, kann also sehr grundlegende Prinzipien vor Augen führen. Traulsen nennt dazu aus seinem Feld den Biomathematiker Josef Hofbauer von der Uni Wien. „Er hat in jungen Jahren gezeigt, dass man die Grundgleichungen der evolutionären Spieltheorie auf die Lotka-Volterra-Gleichungen abbilden kann – dieser Weg funktioniert vorwärts und rückwärts.“ Eine absolut fundamentale Erkenntnis sei das, schwärmt Traulsen. (Mehr dazu gibt es unter anderem im Buch „*Evolutionary Games and Population Dynamics*“ von Hofbauer und Karl Sigmund.)

Die Beispiele zeigen: Was Theoretiker herausfinden, schwappt auch mal in andere Disziplinen über. Oft aber braucht es seine Zeit, bis die Arbeiten gewürdigt werden. Und manchmal sei es auch einfach schwer, mit einer neuen Idee Gehör zu finden. „Es werden ja nicht immer diejenigen am häufigsten zitiert, die die beste Wissenschaft machen – insbesondere im Vergleich zwischen Disziplinen“, merkt Traulsen an und fordert dazu auf, sich gut zu vernetzen und auch auf Konferenzen auf sich aufmerksam zu machen. „Ein bisschen Promotion gehört dazu!“

### Wer liest die Paper?

Wichtig sei es daher, seine Ergebnisse in den richtigen Fachblättern zu publizieren. Wer eine neue Erkenntnis zur Populationsgenetik in einem mathematischen Journal veröffentlicht, erreicht womöglich nicht die richtige *Community*. Andererseits sei es auch schon mal frustrierend, ein Paper speziell auf eine Zielgruppe hin auszurichten. „Die Biologen zwingen uns oft dazu, wirklich interessante Aspekte in die *Supplements* auszulagern“, bedauert Traulsen. Und auch innerhalb der eigenen Gemeinschaft der evolutionären Spieltheoretiker stößt nicht jede neue Idee gleich auf Begeisterung. „Gerade weil durch die Interdisziplinarität Erkenntnisse in der einen Disziplin grundlegend sein können, aber aus einer anderen Perspektive eher nebensächlich.“

Traulsen erinnert sich an eine eigene Arbeit, die er 2012 zusammen mit Julián García in *PLoS One* publizierte (7(4): e35287): „Wir hatten überlegt, wie die übliche Annahme zur Codierung von Mutationen zwischen Strategien spieltheoretische Ergebnisse beeinflusst.“ Anstatt die Veränderung einer Strategie zu einer anderen als rein zufällig anzunehmen, codierten sie einzelne Strategien als Abfolgen von Bits – analog zur Basenfolge einer proteincodierenden Sequenz. „Es ist natürlicher, solche Bits zu



Illustr.: AdobeStock / cooper

mutieren und zum Beispiel Strategie 011 zu 111 zu ändern“, findet Traulsen. Dadurch gibt es aber auch unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten für die Mutation zu einer anderen Strategie, je nachdem wie viele Bits ausgetauscht werden müssen. „Ich hatte das damals mit einem Kollegen besprochen, und der meinte, das Paper würde nie jemand zitieren.“ Und tatsächlich sollte die Publikation bis Oktober 2020 auf nur rund ein Dutzend Erwähnungen kommen. Das Modell würde ja eine Grundannahme der evolutionären Spieltheorie in Frage stellen, so Traulsen über die Einwände seines Kollegen. Hier sind wohl andere Modelle einfach populärer, auch wenn sie dabei die mechanistische Basis der Mutationen schlichtweg ausblenden.

Während die Populationsgenetiker und Spieltheoretiker noch immer gern mit Papier und Bleistift oder Tafelbildern arbeiten, wie Philipp Messer und Arne Traulsen bestätigen, scheint die Auswertung genetischer Daten mehr und mehr automatisiert. Gen-Loci mit Phänotypen assoziieren – hier ist doch vor allem Rechenleistung gefragt, sollte man meinen. Doch auch zwischen Genetikern und Züchtungsforschern gibt es Modellierer, die gelegentlich fragen, ob eine Berechnungsmethode verbessert werden könnte.

### Die beste Pflanze

Eine solche Arbeit erschien im Herbst 2019 in *Genetics* (213: 379-94). Die drei Autoren schlagen eine andere Berechnungsmethode für die bestmögliche Vorhersage von Züchterfolgen vor. Wie man Pflanzenlinien optimal für Kreuzungen auswählt, sollte sich schließlich auch in den Gewinnen von Agrarbetrieben niederschlagen. Erst- und Seniorautor der Arbeit sind die Mathematiker Nicholas Schreck und Martin Schlather von der Uni Mannheim, dazwischen steht der Biostatistiker Hans-Peter Piepho vom Institut für Kulturpflanzenwissenschaften der Uni Hohenheim bei Stuttgart.

„Die Grundannahmen gehen davon aus, dass für ein Merkmal sehr viele Gene im Spiel sind“, erklärt Piepho die modernen Modelle, die folglich nicht mit drei Mendelschen Regeln auskommen. Inzwischen kennt man komplex

vernetzte Signalwege und Genexpressions-Dynamiken, doch für die Zucht ist vor allem eine Frage praxisrelevant: Welchen Anteil der Varianz im Phänotyp lässt sich durch Unterschiede in den Genvarianten erklären? Dabei will man die Gene berücksichtigen, deren Effekte sich auf den Phänotyp einfach aufaddieren lassen. Zum Beispiel alle Gene samt deren Allelen, die den Stärkegehalt einer Kulturpflanze mitbestimmen.

Auch wenn man dabei nicht jeden einzelnen Effekt genau kennt: Für Zuchtpflanzen haben sich in den letzten Jahrzehnten jeweils bestimmte Marker etabliert, die wild über die Chromosomen verteilt sind. Zu diesen Markern existieren unterschiedliche Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP), sodass man sie zum Unterscheiden von Genotypen nutzen kann. „Wir tun dabei einfach so, als wäre jeder SNP mit einem Gen gekoppelt“, so Piepho.

### Addierte Geneffekte

Als wichtige Kennzahl nennt der Hohenheimer den Zuchtwert einer Linie, der die Qualität des Phänotyps widerspiegelt. „Der Zuchtwert ergibt sich aus der Summe aller additiven Effekte eines Genotyps.“ Da man in der Pflanzenzucht in der Regel reinerbige Linien vorhält und diese zum Beispiel einsetzt, um gezielt bestimmte Hybride zu erzeugen, soll ein geeignetes Modell voraussagen, für welches gewünschte Merkmal welche Kreuzungen die besten Ergebnisse bringen.

Bei den derzeit üblichen Modellen, so beschreibt es Piepho, nehme man den Effekt der jeweiligen Gene als zufällig und normalverteilt an. „Wir haben aber den Spieß umgedreht und sehen die genetischen Effekte als feste Größe an“, erklärt Piepho. „Dafür betrachtet unser Modell indes die Allele eines Gens als zufällig. Und so bekommen wir eine etwas andere Schätzung für die Varianz.“

Innerhalb eines Jahres wurden die Ergebnisse dieser mathematisch-agrarwissenschaftlichen Kooperation jedoch kaum zitiert. Zählt man Manuskripte auf *Preprint*-Servern mit, kommt man auf nur fünf Erwähnungen. Dabei müsste das neue Modell doch bares Geld wert sein. Piepho sieht das differenzierter: „Das ist erstmal ein Grundlagen-Paper“, betont er. Ein Züchtungsprogramm sei ein komplexes Unterfangen, mit umfangreicher Logistik und einer Pipeline für die Datenanalyse. „Deshalb geht man in der Pflanzenzucht aus gutem Grund konservativ vor und hält erstmal an bewährten Methoden fest“, fährt Piepho fort. „Denn ein Modell muss sich auch in Feldversuchen an unterschiedlichsten Standorten bewähren, und da besteht noch viel Forschungsbedarf.“

In klinischen Disziplinen kommen dagegen vor allem große Genassoziationsstudien auf hohe Zitzierzahlen. Und auch hier zielen Forscher insbesondere auf die additiven Effekte einzelner Genvarianten. 108 Genvarianten waren es im Fall von Schizophrenie, die ein Zusammenschluss mehrerer Konsortien und dreihundert Autoren 2014 in *Nature* vorgestellt hatte (511: 421-7). Mitgeschrieben hatten auch Marcella Rietschel und Josef Frank vom Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim. Rietschel leitet dort die Genetische Epidemiologie in der Psychiatrie, Frank ist hauptverantwortlich für die Statistik in Rietschels Arbeitsgruppe. „Ich sage nichts ohne meinen Biostatistiker“, scherzt die gelernte Psychiaterin und Psychotherapeutin. Dabei betont sie, wie wichtig die interdisziplinäre Zusammenarbeit ist.

Leider werde die Qualität eines Forschers oft daran gemessen, wo der Name auf den Autorenlisten steht, kritisiert Rietschel. „Erste und Letzte bekommen den meisten Ruhm, aber wo bleiben die anderen 600?“ Denn ohne die internationale Vernetzung und die Beiträge vieler unterschiedlicher Experten wie Biostatistiker, Bioinformatiker, Genetiker und Kliniker bekomme man überhaupt nicht ausreichend Daten zusammen geschweige denn vernünftig

ausgewertet, um Risikogene bei komplexen Krankheiten wie Schizophrenie oder Depression finden zu können. Auch wenn der Beitrag einzelner in einem riesigen Konsortium gelegentlich untergeht, schätzt Rietschel die internationale Vernetzung, weil man auf kurzem Wege kommuniziere und sich auch gegenseitig bei Problemen helfe.

## Signifikanz und Relevanz

Vor ihrer Zeit in Mannheim war Rietschel als Oberärztin in Bonn tätig, und es sei sehr frustrierend gewesen, vielen Patienten kaum helfen zu können. „Da stand ich unter dem Eindruck, dass diese ganzen psychischen Störungen so diffus sind – also dass sich Patienten mit der gleichen Diagnose stark unterscheiden und Patienten mit unterschiedlichen Diagnosen gleiche Symptome haben können. Und dass es keinen einzigen Biomarker für die Diagnostik gibt.“

Inzwischen haben die humangenetischen Projekte aber immerhin einige Zwischenergebnisse gebracht, fasst Rietschel zusammen: „Unter anderem konnten wir tatsächlich zeigen, dass diese psychischen Störungen, die ja noch immer als Erkrankungen des Gehirns gelten, al-

le genetisch überlappen – die einen mehr, die anderen weniger. Die neurologischen Erkrankungen des Gehirns wie Epilepsie oder Parkinson zeigen dagegen sehr distinkte polygene Strukturen.“

Biostatistiker Josef Frank bestätigt ebenfalls, dass für Auswertungen und Vorhersagen nicht immer das komplizierte Modell das bessere ist. „Wenn wir ein sehr komplexes Modell nehmen, das ganz viele Faktoren einbezieht, und wir vergleichen das mit einem basalen und eingängigen Modell, dann stellen wir regelmäßig fest, dass die wirklich relevanten Effekte bei beiden Modellen herauskommen.“

Wichtig sei, dass bei zwanzigtausend proteincodierenden Sequenzen nicht jede Signifikanz auch für eine Relevanz stehe. „Die Anforderungen an die Signifikanz sind heute viel strenger als in Zeiten der Kandidatengenome“, blickt Frank zurück auf die Jahre, in denen fast inflationär neue Gene für Krankheiten beschrieben worden waren. Wenn eine Genvariante mit einem Phänotyp assoziiert ist, sei man heute vorsichtiger. Am Ende helfe nur eines, mahnen Frank und Rietschel: Replizieren, Replizieren, Replizieren!

Mario Rembold

JETZT  
BERUFSBEGLEITEND  
STUDIERN

GENAU DEIN WEG -  
GENAU DEIN STUDIUM

ENTDECKE UNSER STUDIENANGEBOT IM  
BEREICH CHEMIE, BIOLOGIE UND PHARMAZIE



## Einsichten eines Wissenschaftsnarren (33)

# Wissenschaft berät Politik oder Survival of the Ideas that fit

Warum haben wir in den zurückliegenden Monaten nicht versucht, systematisch die fehlende Evidenz zum bestmöglichen Umgang mit der Corona-Pandemie zu generieren? Eine wirklich evidenzbasierte Politikberatung durch die Wissenschaft ist somit weiterhin nur schwer möglich.

Trotz mittlerweile wieder stark steigender Fallzahlen und dem Start eines zweiten Lockdowns Light freuen wir uns in Deutschland zu Recht, dass wir bisher deutlich besser durch die Corona-Krise gekommen sind als viele unserer Nachbarn oder auch die USA. War der „deutsche Weg“ vielleicht gar deshalb so erfolgreich, weil die Politik hierzulande ein offenes Ohr für die Wissenschaft hatte – und deshalb evidenzbasiert die richtigen Maßnahmen verordnet hat?

»Der Wissenschaft gegenüber aufgeschlossen zu sein, reicht nicht aus!«

Das klingt zwar plausibel, doch leider gibt es gerade dafür wenig Evidenz. Vielmehr hat die Wissenschaft bisher kaum belastbare Erkenntnisse geliefert, ob und welche Maßnahmen (zum Beispiel der Lockdown) und Szenarien (beispielsweise ein funktionierendes und gut vorbereitetes Gesundheitssystem) tatsächlich wirksam waren. Das ist tragisch und wirft eher kein gutes Licht auf die Wissenschaft. Denn gerade dieses Wissen würde uns nun wichtige Argumente liefern, was wir tun und was wir besser lassen sollten, um in Herbst und Winter die Intensivstationen nicht überlaufen zu lassen – und uns dabei gleichzeitig ein möglichst normales Leben zu gewährleisten.

Bei näherem Hinsehen wird man sogar feststellen müssen, dass es ja auch gar keine

evidenzbasierte Beratung der Politik durch die Wissenschaft gegeben hat. Aber halt – haben wir nicht einen Christian Drosten, der die Politik berät und zudem noch Wissenschaft in die Breite kommuniziert wie noch keiner zuvor? Dazu eine Physikerin als Kanzlerin, die wichtige Treffen mit den Ministerpräsidenten auch schon mal mit Impulsvorträgen von Epidemiologen einleitet. Und überdies einen Gesundheitsminister, der zwar von der Ausbildung her Bankkaufmann ist, aber rational argumentiert und einer Beratung durch die Wissenschaft gegenüber aufgeschlossen scheint? Reicht das nicht? Ich fürchte: Nein!

Ohne Ausnahme betonen Politiker in allen Ländern, von Albanien bis Zypern (USA eingeschlossen), dass ihre Corona-Maßnahmen auf „Best available Science“ beruhen. Aber wer entscheidet denn, welches diese beste verfügbare wissenschaftliche Evidenz im Einzelfall sein soll? Natürlich die Politik selbst. Schließlich folgen die Bewertung, Priorisierung und Verwendung wissenschaftlicher Evidenz stets einem politischen Kalkül – also unter Einbeziehung anderer staatlicher Interessen wie beispielsweise dem Funktionieren der Wirtschaft. Und dazu kommt natürlich immer auch der Blick auf die Wahlbarometer. Man könnte das Ganze also frei nach Darwin als „Political Selection: The Survival of the Ideas that fit“ bezeichnen.

Außerdem, wie identifiziert man denn die Best available Science insbesondere in Zeiten, in denen der schon vorher beeindruckende wissenschaftliche Müllberg durch „Covidization“ noch weiter anschwillt? In denen durch die Inflation von hastig produzierten, teilweise per Pressekonferenz kommunizierten Ergebnissen eine Trennung von Signal und Rauschen immer schwerer wird – und Evidenzsynthese schon deswegen zum Scheitern verurteilt ist. Denn wo man Müll oben reinsteckt, kommt unten auch wieder Müll raus.

Dies wird auch begünstigt durch einen Research Exceptionalism, der sich in den letzten Monaten rasant ausgebreitet hat – und dessen Maxime lautet: In Zeiten einer Pan-

demie sind schlechte Daten besser als keine Daten. Und so testen derzeit mehr als tausend klinische Studien, welche Therapien ge-

»Politikberatung müsste sich an vier Prinzipien halten, die derzeit jedoch keine Beachtung finden.«

gen COVID-19 helfen könnten – Tendenz exponentiell steigend. Die meisten dieser Studien werden allerdings nie brauchbare Resultate liefern – aber davon im nächsten Wissenschaftsnarren mehr...



Foto: BIH/Thomas Rafalzyk

## Ulrich Dirnagl

leitet die Experimentelle Neurologie an der Berliner Charité und ist Gründungsdirektor des QUEST Center for Transforming Biomedical Research am Berlin Institute of Health. Für seine Kolumne schlüpft er in die Rolle eines „Wissenschaftsnarren“ – um mit Lust und Laune dem Forschungsbetrieb so manche Nase zu drehen.

Sämtliche Folgen der „Einsichten eines Wissenschaftsnarren“ gibt es unter [www.laborjournal.de/rubric/narr](http://www.laborjournal.de/rubric/narr)

Hier fragen wir uns erstmal lieber: Wie müsste denn Politikberatung durch die beste verfügbare wissenschaftliche Evidenz überhaupt aussehen, um robuste Entscheidungsgrundlagen für gesellschaftliche Interventionen gegen das Virus zu liefern? Sie müsste vier Prinzipien verpflichtet sein, von denen erschreckenderweise derzeit keine einzige Beachtung findet. Sie lauten: Inklusivität, Gründlichkeit, Transparenz und Zugänglichkeit.

» *Inklusivität* bedeutet, dass alle verfügbaren Quellen von Evidenz und Expertise systematisch Berücksichtigung finden müssen. Im konkreten Fall also nicht nur aus der Virologie, sondern auch aus der Epidemiologie, der Immunologie, der Hygiene – und natürlich auch aus relevanten nicht-biomedizinischen Domänen. Und die Qualität der vorhandenen Evidenz aus den entsprechenden Studien muss mittels klar formulierter Validitätskriterien objektiv bewertet werden.

» *Gründlich* wird die Beratung, wenn sie Limitationen, Verzerrungen (Bias) und Interessenkonflikte, die der Wissensbasis zugrunde liegen, möglichst vollständig aufzeigt und diese minimiert.

» *Transparent* ist wissenschaftliche Politikberatung, wenn ihr Auftrag und ihre Aufgabenstellung klar formuliert werden. Annahmen, Limitation, Unsicherheiten, offene Fragen müssen klar herausgestellt werden. Potenzielle Konflikte, die persönlich, politisch, kommerziell oder organisatorisch begründet sein können, müssen offengelegt und kontrolliert werden.

» *Zugänglich* sind Beratungsergebnisse, wenn sie für alle frei verfügbar und in allgemein verständlicher Sprache formuliert sind.

Klingt eigentlich alles einfach und einleuchtend. Aber funktioniert so etwas in Zeiten einer potenziell massiven Bedrohung überhaupt? Insbesondere wenn alles ganz schnell gehen muss? Das gelänge vor allem dann, wenn man auf einen Notfallstand gut vorbereitet wäre, wie er zum Beispiel durch ein bisher

unbekanntes Virus ausgelöst wird. Dann würden zumindest Strukturen existieren, die in kürzester Zeit die Etablierung eines solchen Beratungsgremiums erlauben – natürlich jeweils angepasst an die Spezifika der aktuellen Bedrohung.

Außerdem könnte man mit einer akuten Evidenzsynthese beginnen, die zwar noch nicht allen oben genannten Kriterien entspricht, aber im Lauf der Zeit weiter optimiert wür-

de. Bei Corona ist mittlerweile deutlich mehr als ein halbes Jahr vergangen – und noch nichts ist in dieser Richtung passiert.

Vielleicht werden Sie an dieser Stelle einwenden, dass wir all das doch schon haben. Experten, die sich äußern – wie Drosten, Streeck *et al.* Die nationale Akademie der Wissenschaften (Leopoldina), die Empfehlungen formuliert. Dazu eine Vielzahl von Fachgesellschaften und Organisationen mit wohlmeinenden

**F · S · T**<sup>®</sup>  
FINE SCIENCE TOOLS

**Unser neuer Katalog 2021 ist da!**  
Jetzt anfordern unter: [finescience.de](http://finescience.de)

**FINE SURGICAL INSTRUMENTS  
FOR RESEARCH™**

## IMPRESSUM

**Laborjournal**  
**26. Jahrgang | Heft 11/2020**

gegründet 1994  
von Hanspeter Sailer † und Kai Herfort

ISSN: 1612-8354  
Einzelpreis: 3,50 Euro

**Verlag und Herausgeber:**

Lj-Verlag GmbH & Co. KG  
Merzhauser Straße 177  
D-79100 Freiburg  
Tel. +49-761-28 68 93  
www.laborjournal.de

**Druck & Lithos:**

westermann DRUCK | pva  
Georg-Westermann-Allee 66  
38104 Braunschweig

**Anzeigen:**

top-ad Bernd Beutel  
Schlossergäßchen 10  
D-69469 Weinheim  
Tel. +49-6201-290 92-0  
Fax. +49-6201-290 92-20  
E-Mail: info@top-ad-online.de

**Versand/Abo:**

Tel. +49-761-28 68 69

**Stellenanzeigen:**

Ulrich Sillmann,  
Tel. +49-761-29 25 885  
E-Mail: stellen@laborjournal.de

**Kalender:**

Tel. +49-761-29 25 885  
E-Mail: kalender@laborjournal-online.de

**Graphik/Bilder/Montagen/Layout:**

Kai Herfort, Juliet Merz, Ralf Neumann  
Ulrich Sillmann

**Redaktion:**

Zentrale: Tel. +49-761-28 68 93  
Chefredakteur: Ralf Neumann  
Tel. +49-761-29 25 884  
Kai Herfort (-28 68 69)  
Harald Zähringer (-29 25 886)  
Juliet Merz (-29 25 881)  
E-Mail: redaktion@laborjournal.de

**Titelbild:**

AdobeStock / ibreakstock,  
Burkhard Muecke (Creative Commons),  
Montage: Kai Herfort

**Ständige MitarbeiterInnen:**

Ulrich Dirnagl, Rafael Florés, Kathleen  
Gransalke, Karin Hollricher, Sigrid März,  
Henrik Müller, Andrea Pitzschke, Maïke  
Ruprecht, Mario Rembold, Chris Schlag,  
Larissa Tetsch, Hans Zauner

**Bankverbindung:**

Fidor-Bank  
IBAN: DE42 7002 2200 0020 1347 47  
BIC: FDDDEMXXX

Analysen und Vorschlägen. Ja, am Ende könnte man sogar befürchten, es gäbe *zu viel* und nicht zu wenig Politikberatung. Allerdings folgt der momentan verfügbare Rat samt dessen Einfluss auf Entscheidungen der Politik keinem der oben genannten Prinzipien. Er ist im Wesentlichen *Eminenz*-basiert, denn er kommt von „führenden Virologen“ oder einer „Nationalen Akademie“ – entstammt aber nicht aus einer systematischen Analyse.

---

**»Die Beratung ist Eminenz-  
basiert statt Evidenz-basiert.«**

---

Dabei bleibt völlig intransparent, welche Experten mit welchen Argumenten gehört wurden – und welche nicht. Welcher Wissenschaftler oder welche Gruppierung hat wann und warum Zugang zur Politik? Welche Meinungen oder Befunde haben letztlich Eingang gefunden in politisches Handeln? Welches Wissen fehlt besonders dringend, und wo müsste systematischem Vorgehen und gezielten Studien daher Vorrang eingeräumt werden?

Aufgrund der gegenwärtigen Intransparenz des Vorgehens kann daher auch nur vermutet werden, dass die Beratung nicht inklusiv war. Jedenfalls scheint durch, dass wesentliche Gewerke der Wissenschaft in diesem Diskurs – sollte es überhaupt einen gegeben haben – gar nicht beteiligt wurden. Und auch an der Gründlichkeit muss zumindest stark gezweifelt werden. Gerade was Robustheit, Kontrolle von Bias und Interessenkonflikten sowie dergleichen betrifft, hat zumindest die Biomedizin ja schon im Normalbetrieb ihre Schwierigkeiten.

Aber belegt der bisherige Verlauf der Pandemie in Deutschland – insbesondere im Vergleich zu anderen Industrienationen – nicht dennoch, dass Wissenschaft und Politik hierzulande alles richtig gemacht haben?

Während der Narr über diesen Zeilen brütet, steigen die Infektionszahlen in Deutschland so massiv wie anderswo. Gerade wurde bei uns eine Sperrstunde eingeführt. Auf welcher Basis? Gehen die Leute dann aus den Kneipen nach Hause und stecken sich dort beim privaten Weiterfeiern an? Wird das Virus erst nach 23 Uhr besonders gefährlich? In den Medien treten Virologen auf, die diese Maßnahme mit dem Brustton der Überzeugung verurteilen – kurz darauf andere, die sie wieder verteidigen. Welche Evidenz gibt es zu solchen Maßnahmen? Wurde sie berücksichtigt? Aufgrund welcher Evidenz beschließt man Beherrbergungsverbote? Schulöffnungen? Schulschließungen? Und so weiter...

Warum haben wir nicht systematisch versucht, die fehlende Evidenz in den zurückliegenden Monaten zu generieren? Die Wirksamkeit einer Sperrstunde ist ein klassisches Beispiel für einen „*Evidence Gap*“ – also eine Lücke in der Beurteilung, die man zu schließen versucht, sobald man sie identifiziert hat. Das Gleiche gilt zum Beispiel für die Frage, was eigentlich passiert, wenn man Patienten nicht mehr in Kliniken aufnimmt und nach Hause schickt, um Betten für COVID-19-Erkrankte freizuhalten.

Vor acht Monaten war es noch besserwisserisch, solche Fragen zu stellen. Schließlich wussten wir praktisch nichts über das Virus – seine Infektiosität, seine Morbidität und Mortalität oder die Ausbreitungsdynamik. Mittlerweile gibt es weltweit über 40 Millionen bestätigte Fälle und über eine Million Tote. Eine PubMed-Suche mit dem Term „COVID“ ergibt über 60.000 Treffer (Stand 10.10.2020). Rationale wissenschaftliche Politikberatung hätte viel früher die relevantesten Wissenslücken identifizieren müssen – und im gleichen Atemzug die Politik dazu drängen müssen, die entsprechenden Mittel für deren Überwindung durch qualitativ hochwertige Forschung bereitzustellen.

---

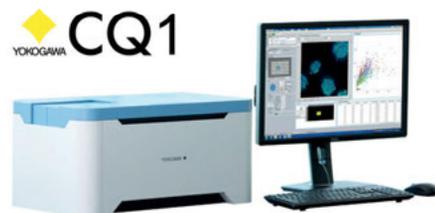
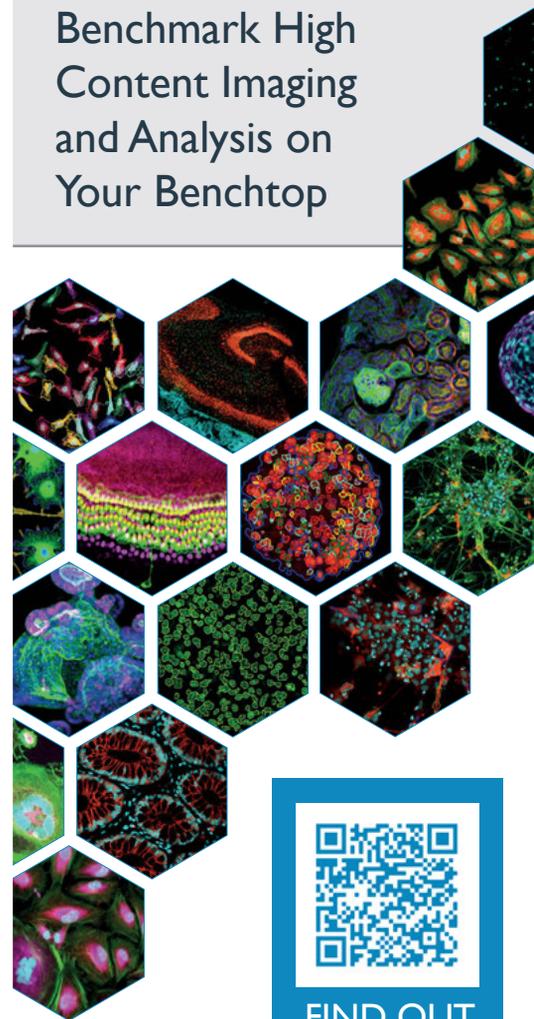
**»Es bleibt die Hoffnung,  
für die nächste Krise  
besser gerüstet zu sein.«**

---

Es gibt wenige Hinweise darauf, dass sich in den kommenden Monaten doch noch eine evidenzbasierte, inklusive, gründliche, transparente sowie zugängliche wissenschaftliche Beratung der Corona-Politik einstellen könnte. Dass so etwas möglich ist, beweist sehr schön das „Thesenpapier 4.0 zur Pandemie durch SARS-CoV-2/COVID-19“, der sogenannte „Schrappe-Report“, das alle der genannten Kriterien erfüllt (*Link siehe <http://dirnagl.com/lj>*). Dieser war jedoch die private Initiative mehrerer Autoren – und findet daher keine Beachtung, weil sie eben *keine* „Nationale Corona-Evidenz-Task-Force“ ist.

Was bleibt ist die Hoffnung, dass spätestens nach dem Ende der Pandemie der Beschluss gefasst wird, für die nächste Krise – und die kommt bestimmt! – besser gerüstet zu sein. Hierzu werden dann beileibe nicht nur genug Masken und Beatmungsgeräte gehören. Sondern eine ganz grundlegende Neuorganisation des Verhältnisses von Wissenschaft und Politik in Krisenzeiten.

*Weiterführende Literatur und Links finden sich wie immer unter: <http://dirnagl.com/lj>*


**Benchmark High  
Content Imaging  
and Analysis on  
Your Benchtop**

**FIND OUT  
MORE ON**  
 looking-at-cells.com!

**Erlebnisse einer TA  
Vertreter-  
vielfalt**

„Ich schicke Ihnen die Gebietsmanagerin“, verspricht mir die Dame am Telefon. Ich bin verwirrt.

„Wen wollen Sie schicken?“

„Na, die für Ihr Gebiet zuständige Vertreterin.“

„Ach so, alles klar!“

„Sag's doch einfach gleich“, denke ich und lege auf.

Inzwischen bin ich daran gewöhnt, dass Firmenvertreter, die gelegentlich bei uns im Labor vorbeischauen, teilweise abenteuerliche Berufsbezeichnungen haben.

„Vertreter“ ist in der heutigen Zeit wohl zu unhip, deshalb prangen geradezu fabulöse Wortschöpfungen auf den Visitenkarten. Zumeist in englischer Sprache. Nach 15 Jahren als TA verfüge ich über eine erkleckliche Sammlung dieser kleinen Kärtchen mit aufgedruckten Berufsbezeichnungen wie:

- » Account Manager
- » Sales Specialist
- » Sales Accountant
- » Sales Manager
- » Sales Representative
- » Territory Manager
- » Product Specialist
- » Area Manager
- » Life Science Specialist
- » Technical Sales Representative
- » Sales Specialist Consumables

Was man alles werden kann heutzutage. „Gebietsmanagerin“ ist allerdings neu! Möglicherweise ein Versuch, ebenso vielfältige wie klangvolle Berufsbezeichnungen auf Deutsch zu kreieren. Dürfte interessant werden...

Ab und zu spiele ich zur Entspannung eine Runde Visitenkarten-Domino mit mir selbst. An den Sales Specialist lege ich den Sales Manager, daran den Accountant Manager und so weiter.

Zu große Vielfalt kann jedoch mitunter auch ein zwiespältiger Segen sein. Wenn ich beispielsweise wissen möchte, wann ein von mir bestelltes Produkt denn nun geliefert wird, frage ich da unseren Sales Manager oder den Account Manager der betreffenden Firma? Und ist der Account Manager beleidigt, wenn ich ihn zugunsten des Sales Managers übergehe? Kann er mir meine Frage überhaupt beantworten? Düpiere ich den Sales Representative, wenn ich mich direkt an den Sales Manager wende? Am Ende wird der Sales Representative arbeitslos – und ich bin schuld. Verzwickte Sache das!

Früher schickte jede Firma einen einzigen Vertreter und gut war's. Der hatte die Handlungshoheit über alle Gebiete... äh... Territories, natürlich.

Neulich waren zwei Vertreter... äh, Manager bei mir. Es handelte sich um unseren aktuellen Sales Manager und seinen Nachfolger. Über diesen Besuch habe ich mich wirklich gefreut, denn sonst erfährt man ja meist erst dann von einem Vertreterwechsel, wenn man – nachdem eine E-Mail an den bisherigen Vertreter seit zwei Wochen unbeantwortet geblieben ist – letztlich genervt in der Firmenzentrale anruft.

„Herr Müller? Der ist schon seit sechs Monaten nicht mehr bei uns.“

So ein kurzer Übergabebesuch ist da viel kundenorientierter, und der Senior Sales Manager half mir sogar noch aus meiner Vertreter-Zwickmühle.

„Richten Sie Ihre Anfragen einfach an uns, wir leiten dann alles weiter.“

Unterm Strich ist also trotz aller Diversifizierung nur ein einziger Vertreter... äh, Manager für meine Belange zuständig.

Gut zu wissen. Es kann halt nur einen geben.

Maike Ruprecht

**CENiBRA**  
 life science solutions

 Cenibra GmbH  
 Münsterstraße 2  
 D-49565 Bramsche  
 Tel: +49 5461 7089089  
 info@cenibra.de  
 www.cenibra.de

## Corona-Club

» Unsere Zellen sind SARS-CoV-2 schutzlos ausgeliefert? Nicht ganz, sagen **Frank Kirchhoff** und seine Mitarbeiter vom **Ulmer Institut für Molekulare Virologie**. Zusammen mit Kollegen aus London beschreiben sie ein Protein, mit dem sich Zellen effektiv gegen SARS-CoV-2 wehren können. Konkret erkennt dieses Zinc Finger Antiviral Protein (ZAP) CpG-Dinukleotide in der viralen RNA und zerschneidet sie. Solche CpG-Dinukleotide kommen zwar bei Viren und Bakterien meist viel häufiger vor als in menschlichen RNAs, doch ausgerechnet die SARS-CoV-2-RNA weist ungewöhnlich wenige davon auf. Glück im Unglück: Sie sitzen dort gehäuft an Stellen, die für die Virus-Vermehrung wichtig sind. Erstautorin **Rayhane Nchioua** et al. konnten die ZAP-vermittelte Virus-Schnibbelelei zumindest in humanen Lungenzelllinien durch Zugabe von Interferonen sogar nochmals steigern – während die Viren sich umgekehrt nach siRNA-vermittelter ZAP-Drosselung wieder stärker vermehrten. (mBio 11:e01930-20) -RN-

» Bekanntlich dockt SARS-CoV-2 mit seinem Spike-Protein an das membranständige Angiotensin-konvertierende Enzym 2 (ACE2) an, um seine Wirtszellen zu entern. Zuvor jedoch müssen Proteasen wie TMPRSS2 oder Furin das Spike-Protein in die richtige Passform schneiden. Dabei legen Furine eine Aminosäuresequenz frei, die jetzt ein Forscherteam der **TU München**, des **Deutschen Zentrums für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE)** sowie der **Universitäten Göttingen** und **Helsinki** auf den Plan rief: Mit dem nahezu gleichen Sequenzmuster binden entsprechende Substrate an Neuropiline. Und tatsächlich beobachteten Seniorautor **Mikael Simons** und Co. in Zellkulturen deutlich höhere Infektionsraten mit SARS-CoV-2, wenn die Zellen neben ACE2 und TMPRSS2 auch Neuropilin-1 auf der Oberfläche trugen. Zwar scheint Neuropilin-1 damit „nur“ als weiterer Türöffner für den Zelleintritt über ACE2 zu fungieren – da es jedoch von vielen Schleimhautzellen und auch im Nervensystem produziert wird, hilft es dem Virus womöglich dabei, auch diese ACE2-armen Zellen zu infizieren. (Science, doi: 10.1126/science.abd2985) -RN-

## Dresden

### Glückliche Hirnevolution

Serotonin wirkt sowohl als Hormon, beispielsweise im Darm und dem Herz-Kreislaufsystem, wie auch als Neurotransmitter im Zentralnervensystem. In letzterer Funktion wird Serotonin auch gerne als „Glückshormon“ bezeichnet, da es Signale zwischen Nervenzellen überträgt, die zu Wohlbefinden beitragen.

Ein Team vom Dresdener Max-Planck-Institut (MPI) für molekulare Zellbiologie und Genetik sowie der dortigen Uni-Frauenklinik hat dem „Multitasking-Molekül“ jetzt eine weitere Signalfunktion zugefügt: als Wachstumsfaktor für Stammzellen im fötalen Menschenhirn. Und das kam so:

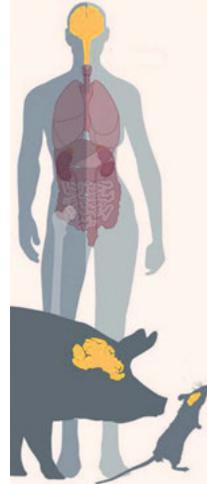
Postdoc **Lei Xing** aus der Gruppe von **Wieland Huttner** fand in bestehenden Datensätzen, dass der Serotoninrezeptor HTR2A zwar im Neocortex des fötalen Menschen gebildet wird, nicht jedoch in der entsprechenden Hirnregion der embryonalen Maus. Das war vor allem deswegen verdächtig, da der Neocortex den Teil des Gehirns darstellt, der sich während der Evolution des Menschenhirns im Vergleich zu anderen Säugetieren am auffälligsten vergrößert hatte. Entsprechend

werden etwa Sprache, Träumen und komplexes Denken insbesondere von dort gesteuert.

Die Frage war folglich, ob der Serotoninrezeptor HTR2A eine Rolle bei der Entwicklung eines größeren Neocortex spielt. Xing und Co. produzierten daher eine Mauslinie, die den HTR2A-Rezeptor außer der Reihe im Neocortex exprimiert. Und tatsächlich löste Serotonin in den Mäuseembryonen über die Bindung an HTR2A eine Reaktionskette aus, die zur Bildung einer größeren Zahl von basalen Vorläuferzellen führte (*Neuron*, doi: 10.1016/j.neuron.2020.09.034). Wozu Xing weiter erklärt: „Mehr basale Vorläuferzellen können die Bildung corticaler Nervenzellen steigern, was letztlich den Weg zu einem größeren Gehirn ebnet.“

Desweiteren zeigten die Dresdener, dass umgekehrt ein Knockout von endogenem HTR2A die Proliferation basaler Vorläuferzellen im Neocortex embryonaler Frettchen reduziert. Aktivierten sie dagegen in Gewebekulturen von fötalem Human-Neocortex pharmakologisch die vorhandenen HTR2A-Rezeptoren, bildeten diese wiederum über die Aktivierung des HER2/ERK-Signalwegs mehr basale Vorläuferzellen aus.

Klar, dass Huttner und Co. nun eine Schlüsselrolle für Serotonin bei der Expansion des Neocortex während der menschlichen Evolution schlussfolgern. -RN-



Illustr.: E. Sjöstedt

## Wien

### Und manche erinnern sich doch...

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) haben den Ruf unspezifischer „Haudraufs“ des Immunsystems. Glücklicherweise können sie wenigstens normale Körperzellen von abnormen wie etwa Tumor- oder virusinfizierten Zellen unterscheiden – sodass sie nur diese attackieren und in den apoptotischen Selbstmord treiben.

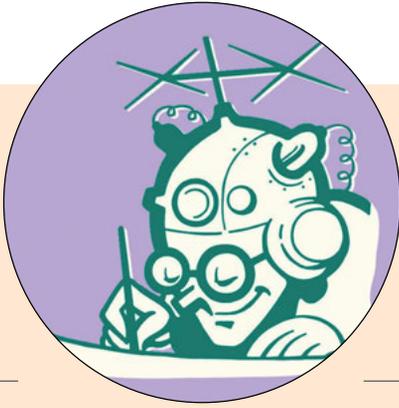
Eine Erinnerungsfunktion, aufgrund derer sie auch „Antigen-spezifisch“ Zellen abtöten können, wurde den NK-Zellen jedoch bislang weitgehend abgesprochen. Schließlich fehlt ihnen die Rekombinationsmaschinerie, die in den B- und T-Zellen die notwendige Antigenrezeptor-Diversität erzeugt.

Dennoch mehrten sich zuletzt einige Hinweise, dass NK-Zellen eventuell doch über ein ähnlich langlebiges und Antigen-spezifisches Gedächtnis wie etwa T-Zellen verfügen. Ein Team der Universitätskliniken für Dermatologie und Chirurgie der MedUni Wien unter der Leitung von **Georg Stary** hat dem nun ein

weiteres passendes Mosaiksteinchen hinzugefügt: Nach ihren Resultaten kann sich rund ein Drittel der NK-Zellen in der Leber an Viren erinnern und somit spezifisch reagieren (*Sci. Immunol.* 5: eaba6232).

Konkret fanden die Wiener in dem großen NK-Zell-Reservoir der Leber eine Subpopulation, die das Immunglobulin CD49a anstelle des üblichen CD16 auf ihrer Oberfläche exprimiert. Neben auffälligen Unterschieden bezüglich transkriptionellem und epigenetischem Profil erkannten diese CD49a<sup>+</sup>-CD16<sup>-</sup>-NK-Zellen in gezielten „Erinnerungsexperimenten“ sehr spezifisch Zellen wieder, die auf ihren Oberflächen Antigene von Hepatitis A- oder -B-Viren präsentierten – und lysierten sie.

Das Fazit der Wiener: In der Leber existieren Antigen-spezifische NK-Zellen unter *Steady-State*-Bedingungen. Wie sie allerdings spezifische Antigene tatsächlich erkennen, liegt noch im Dunkeln. -RN-



## Schöne Biologie

# Hypothesen in Sackgassen

Manchmal steckt Forschung in der Sackgasse: Alle Hypothesen, die man aus der unzureichenden Evidenz formulieren konnte, sind durchgetestet – aber an wirklich neuen Erkenntnissen ist praktisch nichts hinzugekommen. Was kann man da tun?

Vor etwa 17 Jahren schien die Schlafforschung genau in dieser Klemme zu stecken. Die große Frage war natürlich klar: Warum schlafen wir? Doch selbst bei der etwas kleineren Frage, wie der Schlaf auf biochemischer, zellulärer und neurologischer Ebene gesteuert wird, trat man auf der Stelle. Irgendwie wollte keinem mehr eine starke Hypothese einfallen, mit der man hoffnungsvoll in neue Experimente starten konnte.

Allerdings waren zur gleichen Zeit die ersten Hochdurchsatz-Verfahren und *Microarray*-Techniken für Genom- oder Genexpressions-Analysen etabliert worden. Und in dieser Situation war klar, dass irgendwann auch jemand auf die Idee kommen musste, die molekulare Schlafforschung womöglich mit diesen neuen Verfahren aus der Sackgasse herausholen zu können.

Tatsächlich publizierten US-Forscher auch bald Ergebnisse eines entsprechenden Screens von Rattenhirnen, mit dem sie alle diejenigen Gene identifizieren wollten, deren Expression sich während des Schlafes beziehungsweise während der Wachphase spezifisch verändert (*Neuron* 41, S. 35-43). Insgesamt konnten sie auf diese Weise schließlich 752 Gene mit dem Schlaf-Wach-Rhythmus korrelieren, ganze 90 Prozent davon waren bis dahin nie in diesem Zusammenhang aufgetaucht. Die meisten dieser Gene beziehungsweise ihrer Produkte konnten die Autoren wiederum einer von vier funktionellen Gruppen zuordnen – nämlich als eingebunden in die Translation, den Membran- und Vesikelfluss, die Cholesterolsynthese oder in die synaptische Plastizität.

So weit, so gut. Aber was hatten die Autoren hier genau gemacht? In erfrischender Offenheit hatte die Erstautorin Chiara

Cirelli damals eingeräumt: „Das war ein reiner Fischzug aus der Verzweigung, dass man so wenig darüber weiß, wozu Schlaf gut ist.“ Prinzipiell jedoch hatte ihr Team mit dem Screen nicht weniger als eine neue Beobachtungsebene eingeführt, die es vorher nicht gegeben hatte. Und mit den Ergebnissen gleichsam jede Menge Stoff geliefert, aus dem sich ganz neue Hypothesen für das Ausgangsproblem formulieren ließen.

Studie um Studie folgte nach diesem Muster. Und viele proklamierten dieses Muster jetzt als Hypothesengenerierende Forschung – im bewussten Gegensatz zur altherwürdigen Hypothesenbasierten Forschung. Dabei müsste man diesen Ansatz eigentlich als Beobachtungs-generierende Forschung bezeichnen, da er mit seinen Methoden überhaupt erst das Beobachten von bislang verborgenem ermöglicht, auf dessen Basis nachfolgend neue Hypothesen formuliert werden können. *Anyways...*

Viel essentieller ist hingegen, dass man komplett Hypothesenfrei in solche Screening-Studien reingeht – und dass dies womöglich sogar elementar wichtig für den letztlichen Erfolg ist. Auf Twitter schrieb dazu unlängst ein Neurobiologe: „Ich liebe dieses experimentelle Design, gerade weil es Hypothesenfrei ist. Wenn du etwas völlig Neues herausfinden willst, darfst du keinerlei Hypothesen formulieren, da diese stets in bereits vorhandenem Wissen wurzeln. Und dieses ist eines eben gerade nicht: Neu!“

Die konkreten Beispiele, dass da womöglich etwas dran ist, nehmen jedenfalls zu. So antwortete ein kanadischer Kollege, dass bei einer völlig unvoreingenommenen Genomweiten Assoziationsstudie zur Huntington-Krankheit plötzlich Signalwege aufleuchten, die zuvor in den gängigen Tiermodellen nie aufgefallen waren (*Cell* 162(3): 516-26). Und dass die Huntington-Forschung damit nach 25 Jahren endlich aus der Sackgasse herausgekommen sei.

Ralf Neumann



Research & Pharma Solutions

## YOUR SCIENCE. OUR SEQUENCERS.

- ✦ NextGen Sequencing Service
- ✦ Exome
- ✦ Transcriptome
- ✦ Genome
- ✦ Ready to Load Sequencing
- ✦ Customized Projects



CLIA CERTIFIED ID: 99D2130225



Accredited by DAKKS according to DIN EN ISO 15189:2014

**CeGaT GmbH**  
Research & Pharma Solutions  
Paul-Ehrlich-Str. 23  
72076 Tübingen  
Germany

+49 7071 56544-333  
rps@cegat.com



# Wirkung im Widerspruch

*BOCHUM: Dass ein Wirkstoff einen Rezeptor gleichzeitig hemmt und verstärkt, klingt erst einmal paradox. Doch genau das hat ein Team von der Ruhr-Universität Bochum kürzlich dokumentiert und den Mechanismus hinter dem Paradoxon entschlüsselt.*

Der Schauplatz unseres heutigen Journal Clubs befindet sich im Gehirn von Säugetieren. Dort haust eine Rezeptor-Familie, welche für die Signalweiterleitung, Modulation und Plastizität eine entscheidende Rolle spielt: die ionotropen Glutamat-Rezeptoren. Dabei handelt es sich um tetramere Ionenkanäle, die durch den Neurotransmitter Glutamat aktiviert und damit geöffnet werden können. „Pharmakologen und Neurowissenschaftler haben schon seit langem ein Auge auf die Ionenkanäle geworfen, weil sie für die Funktion des Gehirns wichtig sind und für die Behandlung einer Vielzahl von Erkrankungen geeignet sein könnten“, erzählt der Neurobiologe Andreas Reiner, der selbst seit seiner Postdoc-Zeit im US-amerikanischen Berkeley Glutamat-Rezeptoren untersucht und jetzt als Juniorprofessor an der Ruhr-Universität Bochum eine eigene Arbeitsgruppe leitet. So können die Glutamat-gesteuerten Ionenkanäle in pathologische Prozesse verstrickt sein, etwa bei Schmerzen, Migräne und Epilepsie oder bei Stimmungsschwankungen und Suchterkrankungen. Sogar für die Be-

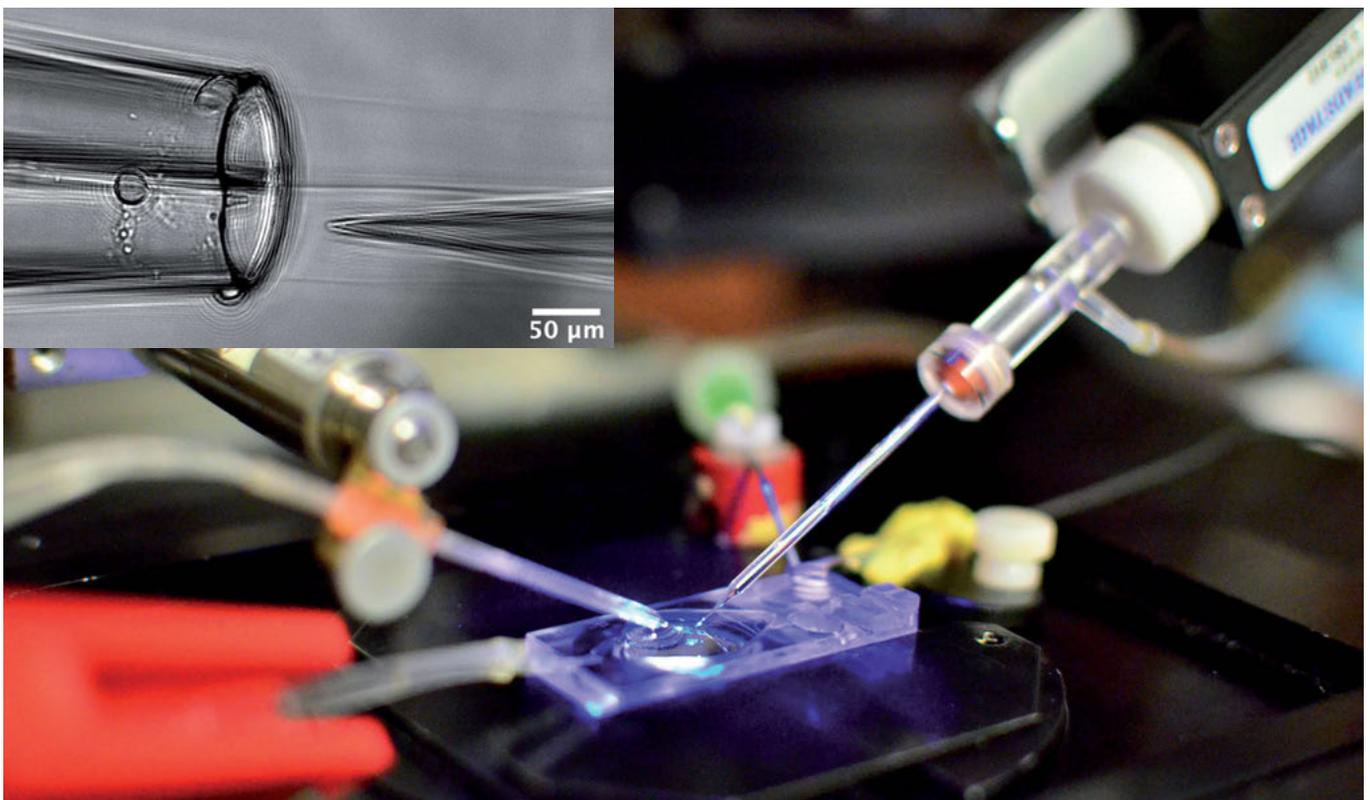
handlung von Neurodegeneration, Schlaganfällen und Glioblastomen haben Pharmakologen den Rezeptor als Ziel im Visier.

## Unerwartete Nebenwirkungen

Im Gehirn sind vier Unterklassen von Glutamat-Rezeptoren bekannt, von denen drei Glutamat-gesteuerte Ionenkanäle sind – die AMPA-, Kainat- sowie NMDA-Rezeptoren. Sie alle übernehmen leicht unterschiedliche physiologische Aufgaben: Die AMPA-Rezeptoren leiten Signale weiter, die Kainat-Rezeptoren kümmern sich zwar auch um die Signalweitergabe, haben aber ebenso neuromodulatorische Funktionen, indem sie die synaptische Aktivität regulieren. Die NMDA-Rezeptoren als dritte Unterklasse stärken oder schwächen Synapsen und ermöglichen so die Lernfähigkeit. „Schon in den 90er-Jahren gab es Bestrebungen, bei bestimmten pathologischen Befunden die Aktivität der Glutamat-Rezeptoren zu hemmen“, erzählt Reiner. Doch die erste Generation dafür eingesetzter Antago-

nisten hatte ein zu breites Wirkungsspektrum, und die Pharmakologen dokumentierten viele unerwünschte Nebeneffekte, auch neurologischer Natur – etwa Halluzinationen oder Dämpfung der Sinneswahrnehmung. Das Problem: Die Antagonisten waren nicht in der Lage, spezifisch an einzelne Rezeptor-Unterklassen zu binden, sondern blockierten gleich einen Großteil aller Glutamat-Rezeptoren.

Eine zweite Generation von Antagonisten versprach Besserung. Die Liganden konnten zwischen den drei Unterklassen unterscheiden und sie spezifisch binden. Den Forschern gelang sogar eine noch passgenauere Bindung, die Reiner am Beispiel eines Kainat-Rezeptors erklärt: „Alle Glutamat-Rezeptoren bestehen aus vier Untereinheiten. Diese können beliebig zusammengesetzt in den Zellen vorkommen. So können Kainat-Rezeptoren homomer nur aus GluK1-Untereinheiten bestehen oder als Heteromere vorliegen und beispielsweise aus einer GluK1-Untereinheit sowie drei GluK2-Untereinheiten bestehen.“ Neuere Antagonisten können also nicht bloß an



Versuchs-Set-up mit der Applikationspipette (links) und Patch-Pipette (rechts). Auf dem Mikroskop-Bild ebenfalls zu sehen: Links die Applikationspipette mit zwei Kanälen, aus denen die Lösungen mit und ohne Glutamat ausströmen (das Runde ist nur eine Verunreinigung). Rechts die Patch-Pipette für die Messung, an deren Spitze sich ein Membranstückchen (Patch) mit den Glutamat-Rezeptoren befindet.

Fotos: RUB/Reiner(Set-up), RUB/Pollok(Mikroskop-Bild)

Andreas Reiner (li.) und Stefan Pollok möchten verstehen, wie Glutamat-Rezeptoren im Gehirn von Säugetieren funktionieren.  
Foto: RUB/Marquard

einzelne Glutamat-Rezeptor-Unterklassen binden, sondern besetzen spezifisch einzelne Untereinheiten-Typen.

Einer dieser Liganden ist das Molekül UBP-310, das 2006 von US-amerikanischen und britischen Wissenschaftlern beschrieben (*J. Neurosci.* 26(11): 2852-61) und 2015 als potenzieller Kandidat zur Behandlung von Epilepsie vorgeschlagen wurde. „Unter Neurobiologen ist UBP-310 inzwischen recht bekannt, weil es als GluK1-selektiver Kainat-Rezeptor-Antagonist genutzt werden kann, um speziell die Funktion dieser Untereinheit zu blockieren“, berichtet Reiner, der für seine Glutamat-Rezeptor-Grundlagenforschung zusammen mit seinem Doktoranden Stefan Pollok ebenfalls auf den Liganden setzt.

Dabei war es gar nicht so einfach, einen passenden Antagonisten zu finden: „Wir haben eine ganze Weile gebraucht, bis wir einen Liganden identifiziert hatten, der die benötigte Selektivität hat“, beschreibt Reiner die Suche nach UBP-310. Allerdings verursacht dieser eigentlich recht spezifische Antagonist unerwartete Nebenwirkungen, wenn er auf heteromere Kainat-Rezeptoren trifft. Woher diese kommen könnten, beantworteten Reiner und Pollok kürzlich in einer in *PNAS* veröffentlichten Studie (117 (41): 25851-8).

In Zellkulturexperimenten beobachteten die Bochumer Neurobiologen, dass UBP-310 zwar als Antagonist an die GluK1-Untereinheit bindet und somit die Aktivierung des Ionenkanals vermindert, bei heteromeren Rezeptoren kann es dabei jedoch auch zu einer verstärkten Antwort kommen. Auf zellulärer Ebene passiert dabei Folgendes, wie die Daten von Reiner und Pollok zeigen: Normalerweise bindet Glutamat an den Kainat-Rezeptor und ein Stromsignal entsteht. Doch nur Millisekunden später folgt eine sogenannte Desensibilisierung des Kanals, er verschließt sich temporär und kann nicht mehr aktiviert werden.

Dieser inaktive Zustand dauert je nach Rezeptor-Unterklasse unterschiedlich lang. Die Kainat-Rezeptoren pausieren etwa ein bis zwei Sekunden, die AMPA-Rezeptoren nur 20 bis 100 Millisekunden. Weil die Desensibilisierung auf einer sehr schnellen Zeitskala abläuft, mussten Reiner und Pollok auf ein aufwendiges Messverfahren zurückgreifen. „Für unsere Versuche mussten wir mit sehr hoher Geschwindigkeit Glutamat oder einen anderen Liganden applizieren können“, meint Reiner und beschreibt das Applikationssystem weiter: „Dafür kontrollieren wir über ein Piezoelement eine Perfusionspipette, sodass wir im Sub-Millisekunden-Bereich die Position dieser



Pipette variieren und somit sehr schnell Stoffe applizieren und entfernen können.“

Der Mechanismus der Desensibilisierung verhindert, dass der Ionenkanal zu lange aktiviert bleibt und auch bei kleinen Glutamat-Restkonzentrationen ein Signal weiterleitet. UBP-310 konnte die Desensibilisierung bei GluK1-Homomeren und GluK1/GluK2-Heteromeren stark abschwächen; bei Heteromeren, bei denen ein anderer Untereinheiten-Typ – nämlich GluK5 – auftritt, konnte UBP-310 die Desensibilisierung komplett verhindern. Bei Homomeren, die ausschließlich entweder aus GluK2 oder GluK5 bestanden, war der Antagonist wirkungslos; wir erinnern uns: UBP-310 bindet nur an GluK1.

### Sicherheitsmechanismus adieu

Reiner und Pollok haben eine Vermutung, wie UBP-310 die Desensibilisierung hemmt: „Eigentlich bindet Glutamat den Rezeptor, aktiviert ihn und sorgt dafür, dass sich seine Konformation ändert. Damit verschließt sich die Ionenpore und eine erneute Aktivierung ist temporär nicht möglich. Mit UBP-310 verharrt der Kanal in einem geöffneten Zustand. Der Antagonist verhindert diesen zellulären Sicherheitsmechanismus, und obwohl die Rezeptoraktivierung zu Beginn inhibiert ist, verstärkt man zumindest in den heteromeren Rezeptoren die Antwort und hat quasi einen gegenteiligen Effekt erzielt.“ Welche Konsequenzen das physiologisch hat, lässt sich allerdings nur schwer vorhersagen. „Es hängt sehr davon ab, welche Rezeptor-Kombination genau exprimiert wird und an welcher Synapse man sich das System anschauen würde“, so Reiner. „Potenziell könnte UBP-310 sogar Schädigungen an den Nervenzellen verursachen.“

Mit den Ergebnissen konnte das Bochumer Duo obendrein ein weiteres Rätsel lösen, wie Studienleiter Reiner erklärt: „Lange Zeit war man davon ausgegangen, dass ein einziges Glutamat-Molekül ausreicht, um den Ionenkanal sowohl zu aktivieren als auch zu desensibilisieren. Unsere Daten widersprechen dieser Annahme. Für die Desensibilisierung braucht man mehr als nur eine besetzte Untereinheit.“

Das Forscherteam nahm in seinen Experimenten auch einen AMPA-Rezeptor ins Visier, mit einem kleinen Trick: Da für den AMPA-Rezeptor noch kein spezifisch bindender Antagonist beziehungsweise in diesem Fall Agonist bekannt ist, behelfen sich Reiner und Pollok mit einer kleinen Mutation am Ionenkanal. Das Resultat war gleich: In Rezeptoren, in denen nur noch ein Teil der Untereinheiten Glutamat oder einen anderen Agonisten binden konnte, blieb die Desensibilisierung reduziert.

„Die Ergebnisse dürften somit nicht nur für UBP-310, sondern auch für andere Glutamat-Rezeptor-Liganden gelten, wodurch sich zusätzliche beziehungsweise unerwartete Effekte sowie Nebenwirkungen ergeben könnten“, formuliert Reiner eine Hypothese. Vor allem Neurobiologen, die UBP-310 für ihre Grundlagenforschung einsetzen, sollten zukünftig die unterbundene Desensibilisierung durch den Antagonisten im Blick behalten, wie Reiner betont: „Unsere Studie zeigt, dass man in der Nutzung und Interpretation der Ergebnisse deutlich vorsichtiger sein muss, als man das vielleicht bisher ist.“

Für Reiner und Pollok geht es mit dem Thema derweil weiter. „Zum einen interessiert uns, wie es bei anderen Wirkstoffklassen aussieht. Hier haben wir uns ja einen Antagonisten angeschaut, der an der gleichen Stelle bindet wie Glutamat“, so Reiner. Aber wie wirken beispielsweise allosterische Wirkstoffe, die an anderen Stellen binden, und haben sie einen vergleichbaren Einfluss auf heteromere Rezeptoren? Auch die AMPA-Rezeptoren bleiben Forschungsgegenstand der Bochumer, denn die Rezeptor-Unterklasse sei physiologisch besonders wichtig, begründet Reiner und ergänzt einen weiteren Aspekt: „In dieser Studie haben wir uns einen synthetischen Liganden angeschaut – möglicherweise gibt es aber auch endogene Substanzen, die im Gehirn den gleichen Mechanismus nutzen, damit ähnliche Effekte herbeiführen und quasi als Modulatoren wirken.“ Ob diese Art der Regulation im Gehirn von Säugetieren aber wirklich eine Rolle spielt, möchte die Gruppe in zukünftigen Forschungsarbeiten zeigen.

Juliet Merz



Foto: Zlatko Levkov & Elena Jovanovsk

## Entstehen und Vergehen

**GIESSEN:** Über eine Million Jahre lang ein isoliertes Ökosystem beobachten – das ermöglicht nun ein Sedimentbohrkern aus dem Ohridsee in Mazedonien sowie Albanien und liefert dabei unerwartete Erkenntnisse zur Evolutionsgeschichte.

Eigentlich ist Tom Wilke Zoologe und wollte in einem Projekt Artbildungsprozesse anhand von Weichtieren untersuchen. Am Ende wurden daraus dann aber Kieselalgen, wie der Evolutionsbiologe schmunzelnd erzählt: „In unserem Sedimentbohrkern waren für eine abgesicherte Statistik einfach zu wenige Mollusken enthalten. Wir haben deshalb extra für das Projekt eine Spezialistin für Kieselalgen eingestellt.“

Wilke, der an der Justus-Liebig-Universität Gießen den Lehrstuhl für Spezielle Zoologie und Biodiversitätsforschung hält, interessiert sich dafür, warum Arten entstehen und wieder aussterben. „Diese Prozesse sind trotz der langen Zeit seit Darwin immer noch nicht verstanden“, weiß der Evolutionsbiologe. Zwar gibt es Modelle dafür, etwa dass Änderungen der Umweltbedingungen die Bildung neuer Arten anstoßen oder dass nach einer Katastrophe ein Ökosystem plötzlich viele Möglichkeiten bietet, neue Arten aufzunehmen. Ein Problem sei aber, so Wilke, dass es an geeigneten natürlichen Systemen mangle, um dieses Modell zu testen.

Immer wieder als Modellsystem für Artbildungsprozesse herangezogen werden beispielsweise Darwins berühmte Galapagosinseln. Allerdings handelt es sich dabei um

eine Inselkette mit Austausch zwischen den einzelnen Inseln – und das verringert die Aussagekraft der Ergebnisse. Besser geeignet für derartige Studien ist ein Ökosystem, das fast vollständig isoliert ist. „Wir arbeiten deshalb mit alten Seen, also solchen, die vor der letzten Eiszeit entstanden sind“, erklärt Wilke. „In diesen leben viele endemische Arten, sodass wir Artbildungs- und Aussterbeprozesse *in situ* studieren können.“

### See mit Alleinstellungsmerkmal

Diese Prozesse laufen allerdings in der Regel extrem langsam ab, weshalb man sie nicht direkt beobachten kann. Stattdessen greifen Wissenschaftler auf Fossilien zurück. Kontinuierliche, ungestörte Fossilablagerungen über lange Zeiträume sind aber selten – ein weiteres Problem der Evolutionsforschung. Einen Ausweg aus dem Dilemma bieten Sedimente von Seen. Denn während an Land organische und anorganische Reste ständig vom Wind weggeblasen werden, sinkt im See langfristig alles zu Boden – von tierischen und pflanzlichen Überresten bis hin zu Mineralstoffen. So auch im Ohridsee, dem mit einem Alter von 1,36 Millionen Jahren ältesten und noch dazu artenreichsten Süßwassersee Europas an der Gren-

ze zwischen Mazedonien und Albanien. Entscheidend ist, dass der See in seiner gesamten Geschichte kein einziges Mal ausgetrocknet ist. „Andere alte Seen liegen oft in den Tropen und sind sehr empfindlich gegenüber Klimaschwankungen“, weiß Wilke. „Der Malawisee in Zentralafrika beispielsweise ist in der letzten Zwischeneiszeit fast trocken gefallen, so dass viele Lebewesen darin ausgestorben sind.“

In der rund 700 Meter dicken Sedimentschicht des heute 300 Meter tiefen Ohridsees ist ein Archiv der gesamten Geschichte des Sees zu finden. Im Rahmen eines mit insgesamt fast zehn Millionen Euro geförderten internationalen Verbundprojekts wurde ein Bohrkern gewonnen, der das gesamte Sediment durchspannt – bis hinunter zu dem Flussbett, aus dem der See vor 1,36 Millionen Jahren entstanden ist (*Nature* 573: 256-60). Und der Bohrkern war voll mit Kieselalgen, die in großer Artenvielfalt im See vorkommen und aufgrund ihrer Silikatschale gut erhalten bleiben (*Sci. Adv.* 6: eabb2943). „Um die Artbildungsprozesse zu untersuchen, standen uns mehr als 150 endemische Kieselalgenarten zur Verfügung“, freut sich Wilke. „Um die Aufnahmekapazität des Ökosystems zu berechnen, also wie viele Arten in dem Ökosystem maximal Platz finden, haben wir noch etwa 200 nicht ende-

mische Arten einbezogen.“ Neben dem Fossilbefund bot der Bohrkern zusätzlich ein durchgängiges Klimaarchiv der letzten Million Jahre. So konnten die Wissenschaftler dreißig Parameter als Proxy für das Klima und die jeweils herrschenden Umweltbedingungen bestimmen und durch eine Kombination verschiedener Parameter am Ende Rückschlüsse darauf ziehen, wie sich beispielsweise die Tiefe des Sees, seine Größe und der Nährstoffgehalt verändert haben. „Wir konnten also genau sagen, unter welchen Bedingungen Arten entstanden oder ausgestorben sind“, fasst Wilke zusammen.

Die Ergebnisse waren für die Forscher dann ziemlich überraschend, denn sie widersprachen dem Modell der Inselbiografie, das auf isolierte Ökosysteme wie den Ohridsee zutreffen sollte. Danach kommt es kurz nach der Inselbildung zu hohen Artbildungsraten, weil ja jede Menge neue Nischen zu besetzen sind. Aus demselben Grund ist die Aussterberate sehr gering. Je mehr Arten hinzukommen, desto stärker nimmt jedoch die Konkurrenz untereinander zu, wodurch die Artbildungsrate sinkt und die Aussterberate steigt.

Ganz anders sah es im Ohridsee aus, wie der Evolutionsbiologe schildert: „Im jungen, noch sehr flachen See sehen wir gleichzeitig hohe Artbildungs- und Aussterberaten. Wenn der See tiefer wird, sinken sowohl Artbildungs- und Aussterberate und nähern sich einander an.“ Dass in evolutiv gesehen sehr kurzen Zeiträumen von hunderten oder tausenden Jahren viele neue Arten entstanden sind, lässt sich Wilke zufolge damit erklären, dass der See viele neue ökologische Möglichkeiten für neue Arten geboten habe.

Die Konkurrenz zwischen diesen sowie schwankende Umweltbedingungen führten aber auch dazu, dass viele Arten schnell wieder ausstarben. Erst als der See größer und vor allem tiefer wurde, konnten Schwankungen in der Temperatur oder im Nährstoffgehalt besser abgepuffert werden, sodass weniger Arten ausstarben. Trotzdem erreichte der tiefe See irgendwann die ökologische Kapazitätsgrenze, und seit über einer Million Jahre hat sich die Gesamtzahl der endemischen Arten kaum verändert. Die Größe des Sees und nicht die darin vorhandene Anzahl an Arten war somit sowohl für die Artbildungs- als auch für die Aussterberate der entscheidende Faktor.



Dank des Bohrkerns aus dem Ohridsee erhielt Tom Wilke spannende Einblicke in die Artbildungsprozesse von Kieselalgen.  
Fotos: Tom Wilke

Ein Schlüsselergebnis der Studie sehen Wilke und sein Team aber in der Erkenntnis, dass mit zunehmendem Alter des Ohridsees die Artengemeinschaften immer stabiler und die Arten immer langlebiger werden. Da einige Großgruppen selektiv ausstarben, nahm auch der Verwandtschaftsgrad zwischen den verbliebenen Arten zu. Gleichzeitig nahm die Konkurrenz zwischen den Arten ab. „Die Arten sind nett zueinander“, bringt es Wilke auf den Punkt. Aber gilt das alles nur für den Ohridsee? Vermutlich nicht, meint der Gießener: „Ähnliche Verhältnisse könnten auch auf die Buntbarsche im Malawi- und im Viktoriasee zutreffen. Hier entstehen neue Arten extrem schnell, zum Teil in nur siebzig Jahren.“

### Kipppunkt zur Katastrophe

Leider sind aber auch die stabilen Artengemeinschaften im Ohridsee nur so lange stabil, wie sie nicht von außen gestört werden. Denn eines sind sie nicht: konkurrenzstark unter veränderten Umweltbedingungen. „Der See und seine Artengemeinschaften können viel abpuffern. Allerdings gibt es Kipppunkte, die nicht überschritten werden dürfen. Geschieht dies dennoch, kommt es zu katastrophalen Ereignissen, und es sterben gleich ganze Artengemeinschaften aus“, sagt Wilke. Und er fügt etwas pessimistisch hinzu: „Wir glauben, dass wir beim Ohridsee durch massive menschliche Einflüsse auf so einen Kipppunkt zusteuern, auch wenn man das noch nicht direkt sieht.“ Denn das sei eines der Probleme: Da die Artengemeinschaften so stabil sind, sehe man lange Zeit kaum Effekte von veränderten Umweltbedingungen. Beginnt dann das Arten-

sterben, geht alles sehr rasch und man kann vermutlich nicht mehr eingreifen.

Einen Vergleich zieht der Evolutionsbiologe zum Korallensterben, einem anderen Forschungsschwerpunkt seiner Gießener Arbeitsgruppe. Rund die Hälfte der Wissenschaftler dort arbeitet mit Steinkorallen, von denen verschiedene Arten in aufwendigen Simulationsversuchen über längere Zeiträume kontinuierlich beobachtet werden. Dabei können, wie im natürlichen System, verschiedene Umweltfaktoren ganz langsam verändert werden, um zu beobachten, wie dies die Fitness der Korallen beeinflusst. „Korallenriffe werden seit 200 Jahren durch Fischerei, Habitatzerstörung und Umweltverschmutzung extrem gestresst“, erklärt Wilke. „Wenn sich jetzt die Meerestemperatur geringfügig ändert, kann plötzlich das gesamte System kippen. Der kleine Auslöser kann der Tropfen sein, der das Fass zum Überlaufen bringt.“

Ein gutes Beispiel, welche Auswirkungen das haben kann, findet man ganz in der Nähe des Ohridsees: Nur rund zehn Kilometer entfernt liegt der kleinere und deutlich flachere Prespasee, der Umwelteinflüsse, wie zum Beispiel einen Vulkanausbruch in Italien vor 40.000 Jahren, weniger gut abpuffern konnte. Die Asche des Vulkanausbruchs haben die Gießener Forscher in ihrem Sedimentbohrkern nachgewiesen und zur zeitlichen Kalibrierung verwendet. „Dem Fossilbefund konnten wir entnehmen, dass die Artengemeinschaften im Ohridsee damals 2.000 Jahre benötigt haben, um sich wieder zu erholen“, so Wilke. „Im Prespasee haben sich die Artengemeinschaften dagegen nie wieder erholt.“

Larissa Tetsch



## Optische Filter

Für die Fluoreszenzmikroskopie & FACS



Große Auswahl · High-end Qualität

[www.ahf.de](http://www.ahf.de) · [info@ahf.de](mailto:info@ahf.de)



## Stichwort des Monats

# Antivitamine

Von den insgesamt rund 20 bekannten Vitaminen sind für den Mensch 13 essenziell. Vitamine sind aber nicht nur für unsereins überlebenswichtig, auch andere Organismen sind auf die organischen Verbindungen angewiesen. Besondere Vorsicht ist deshalb bei den Gegenspielern der Vitamine geboten – den Antivitaminen. Darunter fällt eine Vielzahl von verschiedenen Substanzen, welche die Vitaminwirkung auf ganz unterschiedliche Art und Weise beeinflusst. Antivitamine können beispielsweise die Aufnahme von Vitaminen blockieren, ihre Synthese stoppen oder den Vitaminstoffwechsel blockieren.

Das wohl bekannteste Antivitamin ist Avidin. Das Glykoprotein bindet ähnlich wie sein Namensvetter Streptavidin Biotin mit einer sehr hohen Affinität. Avidin bildet mit Biotin eine stabile nicht-kovalente Verbindung, so dass das Vitamin im Darm nicht mehr aufgenommen werden kann. Avidin kommt im Eiklar von Vogeleiern vor und ist hitzeinstabil – wie die meisten anderen Antivitamine auch. Weitere Antivitamine finden sich in Hülsenfrüchten wieder, in Pilzen oder schwarzem Tee. Wer aber eine ausgewogene Ernährung mit nicht allzu viel Rohkost einhält, braucht sich vor einem durch Antivitamine verursachten Vitamin-Mangel nicht zu fürchten.

### Mysteriöses Viehsterben

Ein weiterer bekannter Antivitamin-Vertreter ist der Vitamin-K-Antagonist Dicumarol. Der bereits verstorbene US-amerikanische Biochemiker Karl Paul Link erzählt in einer spannenden Aufzeichnung von der Entdeckung des Antivitamins (*Circulation* 1959; 19: 97-107). In den 1920er-Jahren manifestierte sich fast gleichzeitig in North Dakota (USA) und Alberta (Kanada) eine Krankheit bei Rindern und Schafen, die in der Tierpathologie und Humanmedizin beispiellos war: Die Blutgerinnung der Tiere verschlechterte sich fortlaufend, was innere Blutungen zur Folge hatte, sodass die Tiere nach etwa dreißig bis fünfzig Tagen verstarben. Die zuständigen Tierärzte konnten die Ursache der Krankheit zunächst nicht benennen, denn weder

ein pathogener Organismus noch ein Mangel an Nährstoffen war nachweislich Verursacher der Krankheit. Den Auslöser fanden die Tierärzte dann in verschimmeltem Steinklee-Heu (*Melilotus*), das auf mysteriöse Weise schlecht geworden war.

Link und sein Team (darunter auch der Schwabe und Agrarchemiker Eugen Wilhelm Schoeffel, der laut Links Erzählungen höchst unterhaltsam in einer Mischung aus Englisch und Schwäbisch fluchte) schafften es schließlich, den Übeltäter zu entlarven. 1939 entdeckte Links Student Harold Campbell auf einem Objektträger kristallisiertes Dicumarol, beziehungsweise 3,3'-Methylenbis(4-hydroxycumarin). Link war es auch, der herausfand, dass Vitamin K der Wirkung von Dicumarol entgegenwirkt – was ihm Forscherkollegen zunächst nicht glaubten. Dennoch erforschten Link und seine Gruppe an der Universität Wisconsin über 100 Dicumarol-Abkömmlinge (die Cumarine). In der Medizin werden Cumarin-Derivate als blutgerinnungshemmende Medikamente verschrieben, lange Zeit waren sie auch als Rattengift im Einsatz.

### Neue Abwehr

Doch Antivitamine können auch eine ganz andere Funktion übernehmen: nämlich als Antibiotika. Das klingt zuerst einmal paradox, denn der Mensch ist genauso wie andere Organismen auf spezielle Vitamine angewiesen. Richtet ein Antivitamin da nicht mehr Schaden an als Nutzen?

Die herrkömmlichen antibiotischen Substanzen zielen entweder auf die Ribosomen der Pathogene und damit ihre Translation ab, oder sie behindern die Biosynthese von Zellwänden. Antivitamine hingegen greifen ganz anders in den Stoffwechsel der Mikroben ein und bergen deshalb hohes Antibiotika-Potenzial. Bislang haben Forschergruppen drei antibiotische Antivitamine beschrieben: das Riboflavin (Vitamin B2)-Analogon Roseoflavin, das Pyridoxin (Vitamin B6)-Analogon Ginkgotoxin 4 und das Thiamin (Vitamin B1)-Analogon 2'-Methoxy-Thiamin (MTh). Letzteres hat

kürzlich ein deutsch-US-amerikanisches Team genauer unter die Lupe genommen.

MTh ist eigentlich von dem natürlich vorkommenden Antivitamin Bacimethrin abgeleitet. Unterschiedliche Bakterien (zum Beispiel *Clostridium botulinum* und *Streptomyces albus*) produzieren den Stoff zur Abwehr anderer Mikroben – und das sehr erfolgreich. Wie die Substanz genau funktioniert, hat das Forscherteam um Bert L. de Groot vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen und Kai Tittmann von der Uni Göttingen und ebenfalls dem Göttinger MPI nun herausgefunden (*Nat. Chem. Biol.*, doi: 10.1038/s41589-020-0628-4).

### Toxisch und nicht toxisch

Thiamin und sein Analogon MTh unterscheiden sich nur an einer einzigen Stelle: Während Thiamin eine Methyl-Gruppe trägt, ist diese bei MTh durch eine Methoxy-Gruppe ausgetauscht. Dieser kleine Unterschied macht MTh für viele Bakterien toxisch. Tittmann, de Groot und Co. konnten mittels Proteinkristallographie in *E. coli* zeigen, dass MTh durch die größere Methoxy-Gruppe nicht mehr linear, sondern angewinkelt ist. Das Antivitamin kann so zwar noch an die Transketolase von *E. coli* (EcTK) binden – einem Schlüsselenzym des Pentosephosphatweges –, aber der eigentlich daran bindende Cofaktor (Thiamindiphosphat) kann nicht mehr aktiviert werden und die Katalyse kommt zum Erliegen.

Aber wie kann sich ein Antivitamin als Antibiotikum eignen, das die für Menschen essenzielle Thiamin-Funktion neutralisiert? Um diese Frage zu beantworten, warf die Forschergruppe MTh auch auf die humane Transketolase – und die juckte das Antivitamin nicht im Geringsten. „Die menschlichen Proteine binden das Antivitamin entweder gar nicht oder so, dass sie nicht ‚vergiftet‘ werden“, berichtet de Groot in der dazugehörigen Pressemitteilung. Damit rücken die Antivitamine plötzlich viel zentraler ins Antibiotika-Rampenlicht.

Juliet Merz



*Kennen Sie sie?*

## Die Nobel-Zuarbeiterin

*Rosalind Franklin gilt als Paradebeispiel für eine Wissenschaftlerin, die zu wenig Anerkennung für ihre Leistung erhielt. Unsere Gesuchte steht ihr darin allerdings kaum nach.*

In den Annalen des Nobelpreises ist es als das Jahr in Erinnerung geblieben, in dem Boris Pasternak den Literatur-Nobelpreis auf Anordnung der sowjetischen Regierung nicht annehmen durfte. Doch auch der Medizin-Nobelpreis hatte in diesem Jahr eine besondere „Geschichte“, über die eine Quelle etwa Folgendes erzählt:

„Im Rüschenkleid stand sie auf dem kunstvoll verzierten Teppich im Stockholmer Konzerthaus und blickte mit eher ernstem Ausdruck auf die Bühne. Eine ungewöhnliche Aufmachung für die Wissenschaftlerin, die ansonsten meist in einem Laborkittel steckte und ein schiefes Grinsen im Gesicht trug. Aber es war ja auch eine ungewöhnliche Zeremonie, zu der die 35-Jährige überdies nicht als Forscherin, sondern als Ehefrau nach Schweden eingeladen worden war. Zusammen mit anderen Ehepartnern, Verwandten und Gästen durfte sie dabei zusehen, wie drei Männer – ihr Ehemann, ihr Mentor und ein weiterer enger Forschungspartner – gemeinsam den Nobelpreis für eine Arbeit erhielten, die sie selbst entscheidend mitgeprägt hatte.“

Entsprechend zynisch schrieb denn auch später eine Biographin über diesen „bittersüßen Abend“: „Es war dieses Team von vier Leuten, die das ganze Zeug ausgearbeitet haben. Aber die drei Jungs kriegen den Preis, während sie selbst Kleid und Handschuhe anziehen musste, um lediglich zuschauen zu dürfen.“

Vor allem ihr damaliger Ehemann hatte offenbar ordentlich von der experimentellen „Zuarbeit“ seiner Gattin profitiert. Zumal mehrere Quellen unabhängig voneinander berichten, dass er zwar ein brillanter Theoretiker war, aber in der praktischen Laborarbeit mit Schimmelpilzen und Bakterien eher durch zwei linke Hände auffiel. Gerade dieses Manko hätte

vor allem seine Ehefrau mit ihrer praktischen Geschicklichkeit und Originalität aufgefangen. Und so waren es oft genug die Petrischalen aus ihren Händen, deren Kolonienmuster ihm den Stoff für seine bahnbrechenden Schlüsse lieferten. „Die beiden profitierten in nahezu symbiotischer Weise voneinander“, erinnerte sich ein gemeinsamer Weggenosse.

Dennoch erwähnte der Preisgekrönte sie an jenem „bittersüßen“ Stockholmer Abend während seiner Dankesrede lediglich in einem banalen Nebensatz, in dem er sagte, dass er bei seinen Arbeiten „die Zusammenarbeit mit

vielen Kollegen genießen durfte, vor allem diejenige mit meiner Frau“. Acht Jahre später wurden sie geschieden.

Geheiratet hatten die beiden zwanzig Jahre zuvor. Er war damals Doktorand an einer Edel-Universität im Nordosten der USA, während sie an der Westküste ein Stipendienprogramm bei den beiden späteren Co-Nobelpreisträgern ihres Mannes ab-

solvierte. Zwar arbeitete sie nur zwei Jahre bei ihnen, dennoch sagen nicht wenige, dass sie auch dort wichtige Beiträge zu deren preisgekrönten Resultaten lieferte.

Bald nach ihrer Hochzeit bekam der Ehegatte eine Professur an einer Universität westlich der großen Seen. Die Tochter eines rumänischen Einwanderers sowie einer New Yorkerin mit ebenfalls teilweise rumänischer Abstammung folgte ihm bald darauf dorthin. Zwar konnte sie dort nur auf einer unbezahlten Stelle arbeiten, aber wenigstens hatte sie rund drei Jahre später ihren Dokortitel in der Tasche.

Ungeachtet dieser Bedingungen wurden die 13 Jahre, die das Ehepaar dort zusammen forschte, zu deren fruchtbarster Zeit als Wissenschaftler. Nicht nur fanden sie dort, dass unter gewissen Umständen DNA doch von einer Bakterienzelle in die andere transportiert werden kann – wofür er *alleine* schließlich den Anruf aus Stockholm erhielt. Vielmehr spürte sie *alleine* in dieser Zeit erstmals einen kleinen Bakterien-Zellparasiten auf, der vor allem in den Pioniertagen der Molekularbiologie ei-

ne Hauptrolle spielen sollte. Ebenso identifizierte sie einen „Faktor“, der einen Großteil der natürlichen Variabilität ihrer Bakterien „in freier Wildbahn“ überhaupt erst ermöglicht. Und nicht zuletzt entwickelten beide zusammen eine wichtige Technik zur Untersuchung von Bakterienkolonien, die unter anderem auch auf ihren Erinnerungen an den Berufsalltag ihres Vaters als Drucker basierte.

Ein Jahr nach seinem Nobelpreis erhielt der Ehegatte den Lehrstuhl für Genetik an einer kalifornischen Edeleni. Sie ging mit ihm, erhielt aber auch dort keine feste Bezahlung. Selbst als sie 16 Jahre später vom „Senior Scientist“ zum „Adjunct Professor“ aufstieg, blieben ihre Einkünfte weiterhin von eingeworbenen Forschungsgeldern abhängig. Dies änderte sich erst, als ein weiterer prominenter Molekularbiologe ihr anbot, Kuratorin des dort ansässigen weltweit größten Plasmid-Referenzzentrums zu werden. Damit verbrachte sie dann die letzten zehn Jahre ihrer wissenschaftlichen Laufbahn – und gab letztlich vielen bis zum heutigen Tage genutzten Plasmiden ihre Namen.

Bleibt als nüchternes Fazit, dass unserer Gesuchten gemessen an ihren tatsächlichen Errungenschaften am Ende viel zu wenig „Karriere“ vergönnt war. Vor 14 Jahren starb sie im Alter von fast 84 Jahren.

-RN-

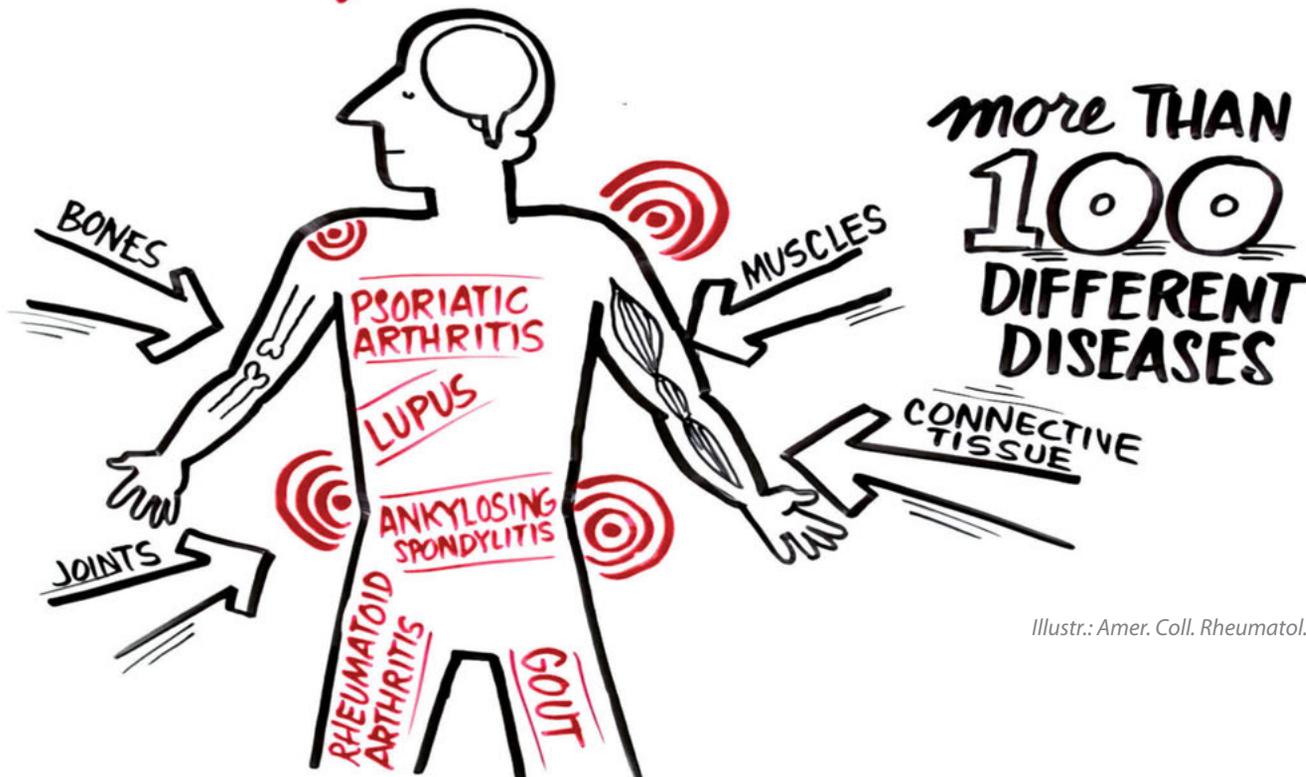
### Na, wer ist's?

Mailen Sie den gesuchten Namen sowie Ihre Adresse an: [redaktion@laborjournal.de](mailto:redaktion@laborjournal.de). Wir verlosen zwei Laborjournal-T-Shirts. In LJ 9/2020 suchten wir **Fanny A. und Walther Hesse**. Gewonnen haben Antje Kretschmer (Potsdam) und Ida Suppanz (Freiburg).

### Auflösung aus LJ 10/2020:

Der „Wiederzurückspritzer“ ist **Noel Rose**, der mit Schilddrüsen-Proteinen erstmals eine Autoimmunreaktion im selben Tier auslöste – und damit die Grundlage für Autoimmunkrankheiten entschlüsselte.

# RHEUMATIC DISEASE



Illustr.: Amer. Coll. Rheumatol.

## Publikationsanalyse 2009 – 2018: Rheumaforschung

### Chamäleons klassifizieren

Rheumaforscher sammeln viele Zitierungen durch Arbeiten zur Klassifikation und Definition von Rheumaerkrankungen. Berlin ist regionaler Hotspot, gefolgt von Wien und Erlangen.

„Der Lupus ist das Chamäleon unter den entzündlich-rheumatischen Krankheiten“, erklärt die Rheumaliga Schweiz auf ihrer Webseite. Beschrieben waren Symptome dieser Autoimmunkrankheit bereits im Mittelalter: Hautrötungen im Gesicht, die nach dem Abheilen Narben hinterlassen. Dadurch, so fanden wohl damals die Namensgeber, wirke das Gesicht „wölfähnlich“. Lupus kann sich aber auch in anderen Organen bemerkbar machen, zum Beispiel am Herzen oder in den Blutgefäßen. Denn auch Entzündungen der Blutgefäße, sogenannte Vaskulitiden, fallen mitunter ins Spektrum rheumatischer Erkrankungen.

Rheuma, das hat folglich irgendetwas mit dem Immunsystem zu tun. Oder auch nicht, wie uns Angela Zink 2015 in einem Interview erklärte ([laborjournal.de/editorials/982.php](http://laborjournal.de/editorials/982.php)). Es gebe nämlich zum einen die Definition der WHO, wonach unter Rheuma jene Erkrankungen zusammengefasst sind, die zu chronischen Schmerzen und Funktionseinschränkungen am Bewegungsapparat führen. Hier wären dann auch alle möglichen Formen von Rückenschmerzen, Arthrose oder Osteoporose

inbegriffen. Zink, Leiterin der Epidemiologie am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum (DRFZ) in Berlin, stellte aber anschließend klar: „Rheuma im engeren Sinne sind die entzündlich-rheumatischen Erkrankungen, die auf Fehlsteuerungen im Immunsystem zurückgehen.“

#### Review oder Artikel?

Wenn Lupus als Chamäleon sein Unwesen treibt, was ist dann erst mit dem gesamten Formenkreis rheumatischer Erkrankungen? Stecken wirklich physiologische Gemeinsamkeiten hinter all diesen Erkrankungen, oder schauen wir auf ein Sammelsurium ganz unterschiedlicher Ursachen? Offenbar waren sich auch die Rheumaforscher der letzten eineinhalb Jahrzehnte gar nicht so sicher, worüber sie eigentlich sprechen und ob sie alle wirklich dasselbe meinen. Jedenfalls behandeln die vielzitierten Arbeiten allesamt Klassifikationen und Definitionen rheumatischer Erkrankungen, sodass offenbar eine große Sehnsucht nach Klarheit besteht.

Nun ordnet das *Web of Science* einige Leitlinien und Konsensarbeiten den Reviews zu,

andere hingegen sind als Artikel einsortiert. Für unsere Ranking-Tabellen zu den Papern haben wir uns schon vor einigen Jahren entschieden, *Guidelines* und ähnliche Übersichtsarbeiten als Reviews anzusehen. Doch entstammen die beiden meistzitierten Arbeiten unserer Reviews-Liste diesmal laut *Web of Science* der Kategorie „Articles“. Für die ermittelten Zitierzahlen der meistzitierten Köpfe jedoch können wir diese Unterscheidungen „per Hand“ nicht vornehmen. In die Summe der Gesamtzitierzahl eines Forschers fließt also jedes Paper ein, das im *Web of Science* mit dem Attribut „Article“ versehen ist. Und diese Zuordnung ist bei den Rheuma-Arbeiten recht uneinheitlich.

Angela Zink zum Beispiel hat an Empfehlungen zum medikamentösen Management rheumatoider Arthritis mitgeschrieben (*Ann. Rheum. Dis.* 69(6): 964-75). Doch weil das Paper als Review hinterlegt ist, bringen ihr die mehr als 1.100 Zitierungen nichts für die Platzierung in der „Köpfe“-Tabelle, auch wenn sie es trotzdem noch auf Position 30 schafft. Julia Funovits hingegen hat am meistzitierten Review mitgewirkt – der jedoch für die ermit-

## Tabellen auf der folgenden Doppelseite!

telten Zitierzahlen mitzählt. Von ihren elf berücksichtigten Publikationen sind die sechs am häufigsten zitierten allesamt Klassifikationen und Definitionen rund um rheumatische Erkrankungen. Ohne diese sechs Paper käme sie nicht auf 6.709 Zitierungen, sondern auf weniger als 300.

Die Klassifikation von Rheumaerkrankungen ist offenbar so zentral relevant, dass Forscher dieser Disziplin immer wieder Bezug auf diese Veröffentlichungen nehmen. Warum diese Arbeiten jedoch als Artikel zählen, während die ebenfalls vielzitierten Behandlungsleitlinien zu rheumatischen Erkrankungen unter die Reviews fallen, erschließt sich uns nicht. Und so sind die Zitierzahlen der hier gelisteten Rheumaforscher umso mehr mit Vorsicht zu genießen. Je nachdem, wen Sie in dieser Tabelle nebeneinanderstellen, sind die Zitierzahlen mit zweierlei Maß ermittelt worden – selbst wenn die Forscher an denselben Themen arbeiten. Ein solcher Vergleich sagt dann gar nichts aus, solange man nicht genauer hinschaut.

### Hohe Zitierzahl durch Klassifikationen

Der eigene Name auf zwei hochzitierten Rheuma-Klassifikationspapern reicht im Einzelfall als Eintrittskarte in die Top 30. Bei Julia Funovits ist das insofern bemerkenswert, als dass ihr letzter wissenschaftlicher Artikel aus dem Jahr 2012 stammt und sie anscheinend schon seit Jahren nicht mehr an der Medizinischen Universität Wien und – nach unserem Wissen – auch an keiner anderen Adresse forscht. Trotzdem landet sie nach unseren Kriterien auf Platz 14 der meistzitierten Rheumaforscher.

Bei den Arbeiten, die wir als rheumabezogene Artikel zählen, haben wir uns eher an die engere Definition gehalten, die die Rolle des Immunsystems einbezieht. Schlagworte wie „Osteoporose“ oder „chronischer Rückenschmerz“ spielten daher keine Rolle bei der Auswahl der Paper. Auf Platz 1 der meistzitierten Artikel landet eine Arbeit, die dennoch in der Grauzone liegt. Diese geht nämlich um Osteoarthritis in Hüfte und Knie und deren Bedeutung für die globale Gesundheit. Entzündungsprozesse spielen bei diesen Leiden zwar eine wichtige Rolle, doch viele Gelenkentzündungen werden ursächlich durch mechanische Belastung und nicht zwangsläufig durch ein fehlgeleitetes Immunsystem ausgelöst.

Das Beispiel zeigt aber, warum saubere Definitionen zu rheumatischen Erkrankungen ein so zentrales Thema der Rheuma-Commu-

nity sind. Die im meistzitierten Artikel aufbereiteten Zahlen stammen übrigens aus der *Global-Burden-of-Disease-Studie 2010*. Hier mag man fragen, ob solch eine Analyse bereits verfügbarer Daten nicht eher in die Review-Schublade gehört. Andererseits bringt ja eine Metaanalyse wirklich neue Daten hervor, die von den Autoren dann auch in einem echten Ergebnisteil präsentiert werden.

Auf Platz 2 eine genomweite Assoziationsstudie zur Schuppenflechte, und damit ein weiterer Anlass zur Diskussion über die Zuständigkeit der Rheumaforscher. Ist Psoriasis nicht eine Hauterkrankung? Die Grenzen sind fließend, denn die Psoriasis-Arthritis, die bei einem Drittel der Schuppenflechtenpatienten auftritt, ist wieder ein klarer Fall für den Rheumatologen. Die hier erwähnte Genomstudie stellt zudem einen Bezug her zu immunologisch relevanten Signalwegen.

Wenn Rheuma solch ein diffuses Gebiet ist, sollte es eigentlich schwer sein, die meistzitierten „Köpfe“ zu ermitteln. Trotzdem war in den meisten Fällen klar ersichtlich, ob sich jemand selbst als Rheumatologe sieht oder nicht. Dass ein Wissenschaftler auf sein Adressschild das Wort „Rheuma“ schreibt, aber niemals in Fachzeitschriften zur Rheumaforschung publiziert, kommt praktisch nicht vor. Umgekehrt finden wir natürlich Schnittmengen zur Immunologie oder vereinzelt auch zur Dermatologie. Hier gehen wir aber davon aus, dass jemand, der regelmäßig in Rheuma-Journalen veröffentlicht, auch ein zentrales Interesse an der Rheumaforschung mitbringt.

### Rheuma-Radiologe

Georg Schett, Platz 1 der meistzitierten „Köpfe“, führte bereits 2017 unser letztes Ranking der Immunologen an. Am Uniklinikum Erlangen ist er Direktor der Medizin 3, die auf Immunologie und Rheumatologie spezialisiert ist. Mit den Dermatologen hingegen gibt es zumindest unter den jeweils dreißig meistzitierten Forschern keine Überschneidungen in den „Köpfe“-Tabellen – vermutlich, weil sich die Dermatologen doch eher auf Melanome konzentrieren oder ihre Arbeiten zur Schuppenflechte lieber in dermatologischen als in rheumatologischen Zeitschriften veröffentlichen.

Regional zeigen sich drei Rheuma-Hotspots im *Laborjournal*-Verbreitungsgebiet: Sieben der „Köpfe“ arbeiten in Berlin, und zwar entweder an der Charité oder am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum (DRFZ). Gerd Burmester (3.) führt die Berliner in Sachen Zitierzahlen an. Die Uniklinik Erlangen beherbergt vier unserer Rheumaforscher, auch wenn Frank Roemer (13.) außerdem in Augsburg und Boston forscht. Überdies sticht er als eingesehener Radiologe zwischen den anderen „Köpfen“ heraus. Doch natürlich ist auch die Bildgebung bedeutsam für das Verständnis rheumatischer Erkrankungen. Neben Beiträgen in rheumatologischen Zeitschriften publiziert Roemer auch zu sportmedizinischen Themen.

Zurück zur Landkarte der Rheumaforschung: Ebenfalls viermal taucht Wien als Adresse auf und stellt mit Josef Smolen auch den zweitplatzierten Rheumaforscher der Liste. Mehr als 6.000 Zitierungen verdankt Smolen jenen als *Articles* kategorisierten Papern zu Klassifikationen und Definitionen. Mit Salzburg und dem Anatomen Felix Eckstein (22.) von der Paracelsus-Privatuniversität ist Österreich sogar fünfmal vertreten – Eckstein forscht zur Funktion muskuloskelettaler Gewebe. Und *last but not least* taucht die Schweiz viermal in der Tabelle der Köpfe auf, angeführt von Oliver Distler (6.) vom Universitätsspital Zürich.

Mario Rembold

### Korrektur

In unserer Publikationsanalyse zur Nieren- und Hochdruckforschung fehlt **Michael Bader vom Berliner Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)**. Seine AG ist zum Beispiel am SFB 1365 zur Nierenprotektion beteiligt. Mehr zu seiner Forschung verrät er unter [www.laborjournal.de/editorials/2116.php](http://www.laborjournal.de/editorials/2116.php).

Mit **6.204 Zitierungen und 210 Artikeln** gehört Bader auf **Platz 16** der meistzitierten „Köpfe“. Wir bitten, den Fehler zu entschuldigen.

Sämtliche Publikationsvergleiche aller biomedizinischen Disziplinen aus über 20 Jahren *Laborjournal* via [www.laborjournal.de/ranking](http://www.laborjournal.de/ranking)

# Rheumaforschung

## Die meistzitierten Originalartikel

Zitate

1. Cross, M;...;Nolte, S;...; March, L  
The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study.  
*ANN RHEUM DIS* 73(7): 1323-30 (JUL 2014) 1.125
2. Nair, RP;...; Ruether, A; Schreiber, S; Weichenthal, M;...; Abecasis, GR  
Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappa B pathways. *NAT GENET* 41(2): 199-204 (FEB 2009) 868
3. Kessenbrock, K;...; [+8 Koautoren, darunter 7 aus D, z.B. Gross, WL]  
Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis.  
*NAT MED* 15(6): 623-5 (JUN 2009) 818
4. Jones, RB;...;...; Hauser, T;...; Jayne, DRW  
Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-Associated Renal Vasculitis.  
*NEW ENGL J MED* 363(3): 211-20 (15 JUL 2010) 809
5. Hakkim, A;...; [+8 Koautoren aus D]  
Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *P NATL ACAD SCI USA* 107(21): 9813-8 (25 MAY 2010) 717
6. Furie, R;...; Zamani, O;...; Swarting, A;...; van Vollenhoven, RF  
A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *ARTHRITIS RHEUM-US* 63(12): 3918-30 (DEC 2011) 708
7. Strange, A;...; [+83 Koautoren, darunter 5 aus D]  
A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1.  
*NAT GENET* 42(11): 985-90 (NOV 2010) 630
8. Hueber, W;...; [+22 Koautoren, darunter 6 aus CH]  
Effects of AIN457, a Fully Human Antibody to Interleukin-17A, on Psoriasis, Rheumatoid Arthritis, and Uveitis.  
*SCI TRANSL MED* 2(52): 52ra72 (6 OCT 2010) 625
9. Tyndall, AJ; Bannert, B;...; Muller-Ladner, U; Distler, O;...; Kötter, I; Walker, UA  
Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database.  
*NN RHEUM DIS* 69(10): 1809-15 (OCT 2010) 557
10. Tsoi, LC;...; [+197 Koautoren darunter 30 aus D und A]  
Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *NAT GENET* 44(12): 1341-8 (DEC 2012) 535



Georg Schett, Erlangen (li., 1.),  
Josef Smolen, Wien (re., 2.)



Daniel Aletaha, Wien (li., 7.),  
Gabriela Riemekasten, Lübeck (re., 8.)



Johannes Roth, Münster (li., 16.),  
Steffen Gay, Zürich (re., 17.)

## Die meistzitierten Reviews et al.

Zitate

1. Aletaha, D;...; Funovits, J;...; Burmester, GR;...; Smolen, JS;...; Hawker, G  
2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative.  
*ARTHRITIS RHEUM-US* 62(9): 2569-81 (SEP 2010) 3.292
2. Jennette, JC;...; Gross, WL;...; Lamprecht, P;...; Watts, RA  
2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides.  
*ARTHRITIS RHEUM-US* 65(1): 1-11 (JAN 2013) 2.315
3. McInnes, IB; Schett, G  
MECHANISMS OF DISEASE The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis.  
*NEW ENGL J MED* 365(23): 2205-19 (8 DEC 2011) 2.165



Winfried Häuser, Saarbrücken (li., 24.),  
Torsten Witte, Hannover (re., 25.)

# Publikationsanalyse 2009 – 2018

Von Mario Rembold



**Gerd Burmester**, Wien (li., 3.),



**Joachim Sieper**, Berlin (re., 4.)



**Ulf Müller-Ladner**, Bad Nauheim / Gießen (li., 10.),  
**Frank Roemer**, Erlangen / Augsburg (re., 13.)



**Andreas Radbruch**, Berlin (li., 20.),

**Xenofon Baraliakos**, Herne (re., 21.)



**Jürgen Wollenhaupt**, Hamburg (li., 29.),

**Angela Zink**, Berlin (re., 30.)



## Die meistzitierten Köpfe

Zitate | Artikel

1. <b>Georg Schett</b> , Rheumatol. & Immunol. Univ.-klin. Erlangen	<b>19.256</b>	<b>395</b>
2. <b>Josef S. Smolen</b> , Rheumatol. Med. Univ. Wien (emeritiert)	<b>18.421</b>	<b>243</b>
3. <b>Gerd R. Burmester</b> , Rheumatol. Charité Univ.-med. Berlin	<b>16.257</b>	<b>248</b>
4. <b>Joachim Sieper</b> , Rheumatol. Charité Univ.-med. Berlin	15.412	197
5. <b>Jürgen Braun</b> , Rheumazentrum Ruhrgebiet Herne	13.461	225
6. <b>Oliver Distler</b> , Klin. f. Rheumatol. Univ.-spital Zürich	12.126	227
7. <b>Daniel Aletaha</b> , Klin. Abtl. f. Rheumatol. Med. Univ. Wien	11.372	95
8. <b>Gabriela Riemekasten</b> , Rheumatol. Med. Univ.-klin. SH Lübeck	9.339	181
9. <b>Martin Rudwaleit</b> , Rheumatol. Klinikum Bielefeld & Charité Berlin	9.120	100
10. <b>Ulf Müller-Ladner</b> , Rheumatol. Kerkhoff-Klin. Bad Nauheim & Univ. Gießen	9.029	204
11. <b>Joachim Listing</b> , Epidemiol. Deutsches Rheumaforsch.-zentr. Berlin (DRFZ)	8.227	73
12. <b>Jörg H.W. Distler</b> , Rheumatol. & Immunol. Univ.-klin. Erlangen	7.504	168
13. <b>Frank W. Roemer</b> , Radiol. Univ.-klin. Erlangen & Boston Univ. & Klin. Augsburg	6.894	204
14. <b>Julia Funovits</b> , zuletzt: Rheumatol. Med. Univ. Wien	6.709	11
15. <b>Martin Herrmann</b> , Rheumatol. & Immunol. Univ.-klin. Erlangen	6.523	137
16. <b>Johannes Roth</b> , Immunol. Univ. Münster	6.287	137
17. <b>Steffen Gay</b> , Zentr. f. Exp. Rheumatol. Univ.-spital Zürich	6.229	119
18. <b>Wolfgang L. Gross</b> , Rheumatol. Univ.-klin. SH Lübeck	6.193	71
19. <b>Alan Tyndall</b> , Rheumatol. Univ.-spital Basel	6.061	64
20. <b>Andreas Radbruch</b> , Deutsch. Rheumaforsch.-zentr. DRFZ Berlin	5.920	129
21. <b>Xenofon Baraliakos</b> , Rheumazentrum Ruhrgebiet Herne	5.671	109
22. <b>Felix Eckstein</b> , Anat. Paracelsus Med. Priv.-univ. Salzburg & PMU Nürnberg	5.279	176
23. <b>Ulrich A. Walker</b> , Rheumatol. Univ.-spital Basel	5.225	93
24. <b>Winfried Häuser</b> , Psychosomatik Klinikum Saarbrücken (zuvor TU München)	4.947	120
25. <b>Torsten Witte</b> , Klin. f. Rheumatol. & Immunol. MH Hannover	4.930	146
26. <b>Jochen Zwerina</b> , Inst. f. Osteol. Hanusch-Krankenh. Wien	4.706	100
27. <b>Thomas Dörner</b> , Rheumatol. & Klin. Immunol. Charité Univ.-med. Berlin	4.532	107
28. <b>Thomas Vogl</b> , Immunol. Univ. Münster	4.509	103
29. <b>Jürgen Wollenhaupt</b> , Rheumatologie im Struenseehaus Hamburg-Altona	4.099	57
30. <b>Angela Zink</b> , Epidemiol. Deutsches Rheumaforsch.-zentr. Berlin (DRFZ)	4.038	75

## So entstehen unsere Tabellen

Berücksichtigt wurden Artikel aus den Jahren 2009 bis 2018 mit mindestens einem Autor mit Adresse im deutschen Sprachraum. Die Zahlen für Zitate und Artikel lieferte die Datenbank „Web of Science“ von Clarivate Analytics (ehemals bei Thomson Reuters). Stichtag war der 9. Oktober 2020.

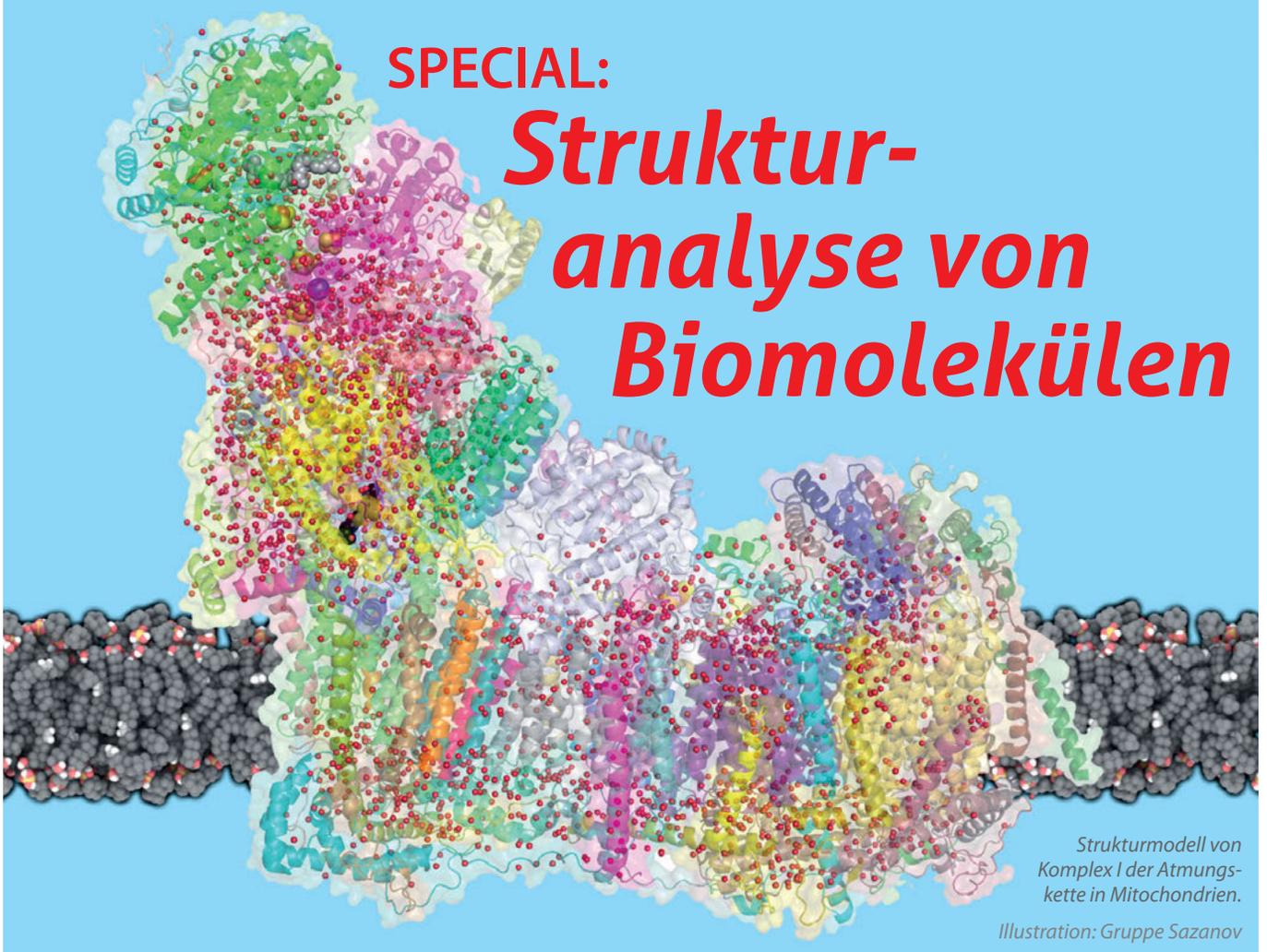
Die „Köpfe“ publizierten zwischen 2009 und 2018 bevorzugt in Fachblättern zur Rheumaforschung oder arbeiteten an einem Institut dieser Ausrichtung. Reviews, Meeting Abstracts oder Ähnliches zählten nicht.

**Wichtig:** Die Datenbanken sind nicht fehlerfrei. Deren „innere“ Fehler können wir in der Regel nicht erkennen.

Listen: Mario Rembold

SPECIAL:

# Struktur- analyse von Biomolekülen



Strukturmodell von  
Komplex I der Atmungs-  
kette in Mitochondrien.

Illustration: Gruppe Sazanov

RÖNTGENSTRUKTURANALYSE, NMR UND CRYO-EM

## Mehr als nur die Summe

Die Funktion biologischer Makromoleküle hängt von ihrer Struktur ab. Nur wer diese kennt, weiß, was sich in Proteinkomplexen, molekularen Maschinen oder Ribosomen abspielt. Mit Röntgenstrukturanalyse, NMR und Cryo-Elektronenmikroskopie versuchen Biowissenschaftler, die Strukturen aufzulösen.

Strukturbiologen leben in einer spannenden Zeit. Denn heute stehen ihnen Methoden zur Verfügung, mit denen sie den Aufbau und die Funktionsweise zellulärer Moleküle in einer Geschwindigkeit und Genauigkeit untersuchen können, von der sie vor wenigen Jahren noch nicht einmal zu träumen gewagt hätten. Quasi live kann man das gerade am SARS-CoV-2-Virus mitverfolgen. In der Proteindatenbank (PDB) findet man Strukturbilder des Virus und seiner Bestandteile, die mit Röntgenkristallografie (X-Ray), Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) und Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) rekonstruiert wurden.

Diese drei Methoden sind die Arbeitspferde der Strukturbiologen, um Form, Größe, atomaren Aufbau und Mechanismen von Proteinen und Komplexen aufzuklären. Obwohl viele Anwender nur eine dieser Methoden favorisieren, hört man in der Strukturbiologen-Szene immer mehr Stimmen, die die Komplementarität dieser drei Techniken betonen. Ein Paradebeispiel für ihr erfolgreiches Zusammen-

spiel ist die Aufklärung von Struktur und Mechanismus des Spleißosoms. Dieser molekulare Komplex schneidet im Zellkern Introns aus prä-mRNA-Molekülen heraus und verbindet die verbleibenden Exons miteinander.

### Forscherleben für das Spleißosom

Wie man die Struktur dieses Multi-Protein-RNA-Komplexes nach und nach enthüllte, kann Reinhard Lührmann erzählen. Er gilt als der weltweit vielleicht beste „Spleißosom-Versteher“ und verbrachte fast sein ganzes Forscherleben mit diesem Komplex. Lührmann arbeitete viele Jahre am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen und hat dort noch immer eine Emeritus-Gruppe. „Das Spleißosom besteht aus über hundert Proteinen und fünf kleinen snRNA-Molekülen. Etwa 50 Proteine bilden mit den snRNAs Partikel namens U1- und U2-snRNP sowie U4/U6.U5-tri-snRNP. Überraschenderweise existie-

ren Spleißosomen nicht als vorgefertigte Maschinen, sondern werden an jedem Intron aus den einzelnen Bausteinen neu zusammengesetzt, wobei sie sukzessive eine Vielzahl verschiedener struktureller und funktioneller Stadien durchlaufen. Dabei ändert sich die biochemische Zusammensetzung des Spleißosoms kontinuierlich, was eine enorme Herausforderung für die Strukturbiologie ist. Wenn man die Struktur des Spleißosoms verstehen will, reicht es nicht, einen einzigen spleißosomalen Komplex zu analysieren – man muss alle Zwischenzustände des Spleißosoms strukturell aufklären, die es während der Phasen des *Assemblies*, der katalytischen Aktivierung, der katalytischen Phase und des *Disassemblies* durchläuft.“ Dafür waren Röntgenkristallografie, NMR und Kryo-EM gemeinsam im Einsatz.

Nachdem die ersten Proteine sequenziert waren, begann man in den Neunzigerjahren mit Kristallografie und NMR, die Struktur einzelner Proteindomänen aufzuklären – später auch von größeren Proteinen sowie Pro-

tein-RNA-Komplexen. Die snRNPs stellen die Forscher allerdings auf eine harte Probe. Sie sind mit etlichen Hundert Dalton viel zu groß, um sie im NMR zu analysieren. Und bis auf eine Ausnahme, das U1snRNP, gelang es auch niemandem, sie zu kristallisieren.

## Auflösungs-Revolution

Kryo-EM war damals auch nicht erfolgreich, weil man die Zwischenzustände mit prä-mRNAs *in vitro* assemblieren lassen musste. Daraus aber konnte man nicht genug Material für die Mikroskopie isolieren. Lührmann: „Erst in den Nullerjahren gelang es uns mit Holger Stark, die 3D-Struktur mehrerer spleißosomaler *Snapshots* und des tri-snRNPs bei niedriger Auflösung in den Grundzügen zu beschreiben. Mit der Entwicklung von direkten Detektoren, die die zuvor genutzten Kameras ablösten, und mit Unterstützung von sehr effizienten *Maximum-Likelihood*-Bildverarbeitungsprogrammen setzte dann in den ersten Jahren dieses Jahrzehnts eine Revolution in der Auflösung ein.“

Innerhalb von nur fünf Jahren wurden hochaufgelöste 3D-Strukturen aller snRNPs und der wichtigsten spleißosomalen Zwischenzustände des menschlichen und des Hefe-Spleißosoms publiziert – im Wesentlichen von drei Arbeitsgruppen in Peking, Cambridge und Göttingen.

„Damit ist ein lange gehegter Traum von mir, dem Spleißosom bei der Arbeit zuschauen zu können, erfüllt worden“, sagt Lührmann. „Während unsere früheren biochemischen Untersuchungen die kompositionelle Dynamik des Spleißosoms deutlich gemacht hatten, haben die Kryo-EM-Strukturen der diversen spleißosomalen Komplexe jetzt offenbart, wie dramatisch die Dynamik der Strukturumlagerungen des Spleißosoms beim Übergang von einem Zustand zum nächsten sein kann. So können mehrere große Strukturelemente des Spleißosoms sukzessive Translokations-Bewegungen von mehr als 20 Nanometern durchlaufen. Ein Prinzip, das von anderen molekularen Maschinen wie beispielsweise dem Ribosom nicht bekannt ist.“

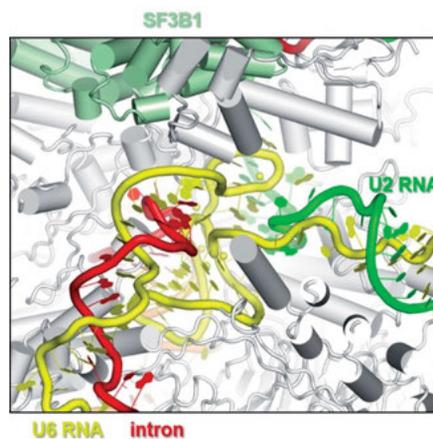
## Überflieger Cryo-EM

Innerhalb dieser fünf Jahre schnellte die Zahl der in der PDB archivierten 3D-EM-Strukturen von 968 auf 6.183 hoch (Stand: 23. Oktober 2020). Im Jahr 2015 wurden dort 218 Strukturen abgelegt, in diesem Jahr sind es bereits 1.899. Diese Zahlen lassen vermuten, dass Kryo-EM-Strukturforscher gerade eine ähnlich tolle Zeit haben wie Lawrence Bragg in den frühen Tagen der Röntgenkristallografie. Die beschrieb er in seiner Rede zum No-

belpreis 1950 so: „*It was a wonderful time. Like discovering a new goldfield where nuggets could be picked up on the ground, with thrilling new results every week.*“

Natürlich schwört auch Joachim Frank, der mit Jacques Dubochet und Richard Henderson 2017 den Nobelpreis für Kryo-EM bekam, auf die Technik: „*The frontiers in structural biology are very clearly larger systems and systems in situ.*“ (*Biochem. 57: 277*). Darum wechseln derzeit viele Forscher vom Synchrotron zum Kryo-Elektronenmikroskop.

Was wohl Max Perutz tun würde, wenn er noch lebte? Er hatte mit der Beschreibung der Struktur des Hämoglobins Anfang der Sechzigerjahre der Röntgenkristallografie den Weg in die Biologie bereitet. Seit Anfang der Achtzigerjahre liefert die NMR Daten biologischer Moleküle. Die Kryo-EM folgte kurz darauf, glänzt aber erst seit etwa zehn Jahren mit hochaufgelösten Strukturen. Deshalb stammen die meisten Strukturen in der Proteindatenbank aus der Kristallografie. Im Oktober verzeichnete man dort gut 150.000 Rönt-



3D-Struktur der katalytischen U6 snRNA im Zentrum des Spleißosoms.

Illustration: MPI für biophysikalische Chemie

genkristallstrukturen, rund 13.000 NMR-Modelle und etwas über 6.000 Kryo-EM-Gebilde – aber nur 177 *Multi-Methods*-Strukturen.

Jede der genannten Methoden hat ihre Vor- und Nachteile, ihre glühenden Verfechter und ebenso rigorosen Kritiker. Manche Forscher aber machen sich für die Kombination der Methoden stark. So will weder Lührmann in den Abgang der Kristallografie einstimmen noch sein Kollege Holger Stark aus demselben Max-Planck-Institut – obwohl Stark gerade wissenschaftliche Erfolge mit seinem neuen Kryo-Elektronenmikroskop feiert (siehe Interview Seite 48).

Auch Oliver Einsle von der Universität Freiburg stemmt sich gegen den Niedergang der Kristallografie. „Kryo-EM ist toll, aber ihre rasan-

te Entwicklung hat das Feld in eine deskriptive Phase zurückgeworfen“, gibt er zu bedenken. „Dabei ist sie weniger präzise als Kristallografie und enthüllt weniger chemisch-mechanistische Details als NMR. Aber ich bin zuversichtlich, dass diese Phase vorbeigehen wird und wir künftig wieder mehr an Funktion als an Struktur denken.“

Richard Henderson, der am *MRC Laboratory for Molecular Biology* im britischen Cambridge arbeitet, schreibt dazu in einer E-Mail: „Einzelartikel-Kryo-EM wird in etwa vier Jahren bei den Rohkoordinaten in der Proteindatenbank die Führung übernehmen. Die Verdopplungszeit liegt bei knapp unter zwei Jahren, ist also etwas schneller als das Moore'sche Gesetz für die Computer.“ Trotzdem glaubt er, dass die Röntgenkristallografie auf unbestimmte Zeit auf ihrem bisherigen Niveau an Synchrotrons fortgeführt werde.

## NMR für die Dynamik

Auch auf die NMR wird man künftig nicht verzichten können. „Kristallografie und EM zeigen die Moleküle wie in Schnappschüssen, in denen die jeweiligen Zustände erstarrt sind. NMR aber offenbart ihre Dynamik. Zur Messung von sehr flexiblen Molekülen oder Molekülbereichen ist NMR besser geeignet als Cryo-EM. Außerdem lassen sich kurze lokale Abstände damit bestens darstellen“, sagt Gunnar Schröder vom Forschungszentrum Jülich. Er setzt auf beide Methoden, um Antworten auf seine Fragen zu finden. Seine Gruppe beschrieb erstmals die Struktur von Amyloid- $\beta$ -Fibrillen in drei Dimensionen mit hoher Auflösung. Mit ihr und mithilfe von NMR-Daten entwickelte das Team ein atomares Modell.

Am Rande der Diskussion um das Methodentrio hat sich die Kristallografie mit Freie-Elektronen-Röntgenlasern (FEL) in die Startlöcher begeben – was bisher außerhalb der Szene wenig Beachtung fand. Zwei dieser Strahlungsquellen wurden 2017 in Betrieb genommen: das European XFEL in Hamburg und das FEL am Paul-Scherrer-Institut im Schweizer Kanton Aargau. Sie können derart kurze Röntgenpulse erzeugen, dass man damit auch extrem schnelle, nur Femtosekunden dauernde Reaktionen darstellen kann. Man benötigt auch keine großen Kristalle, sondern kommt mit Mikrokristallen aus.

Alles in allem scheint es, dass die Kombination aus Röntgenstrukturanalyse, Kryo-EM und NMR mehr wert sein könnte als ihre bloße Summe. Denn jede dieser Methoden beschreibt ein Molekül aus einer anderen Perspektive, mit unterschiedlichen Details und Genauigkeit. Das sollte man sich zunutze machen.

Karin Hollricher

# Magnete gegen SARS-CoV-2

Das COVID-19-NMR-Konsortium aus zweihundert Wissenschaftlern sucht nach therapeutisch relevanten Zielstrukturen im Genom und Proteom von SARS-CoV-2. Warum setzen sie dafür gerade auf die komplizierte NMR-Spektroskopie?

RNA-Genome sind Gestaltwandler. Sie müssen einen Replikationskomplex bilden, an Ribosomen binden, Abwehrmechanismen ihrer Wirte entkommen und sich zu neuen Viruspartikeln zusammenfinden. Dafür alternieren ihre RNA-Elemente zwischen verschiedenen Konformationen. Ihre Bindungsstellen, auch für antiviral wirkende Liganden, finden sich fast ausschließlich in unstrukturierten Bereichen – in Haarnadelstrukturen, internen Schleifen und Ausbeulungen.

Für die Strukturbiologie sind variable RNA-Elemente Herkulesaufgaben. Die Röntgenkristallografie kann zwar zehn Megadalton schwere Ribonukleoproteinkomplexe auf ein Ångström genau auflösen – aber nur wenn die beteiligte RNA wohlgeordnete Kristalle bildet.

Die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) erreicht die atomare Auflösung nur mit RNA, die leichter ist als 35 Kilodalton. Die Kryo-Elektronenmikroskopie (EM) löst zwar 200 Kilodalton bis 20.000 Megadalton schwere Strukturen im Subnanometerbereich auf, RNA ist für sie aber Neuland. Die Röntgen-Kleinwinkelstreuung (SAXS) überbrückt schließlich die Größenbegrenzungen von NMR und Kryo-EM. Sie funktioniert jedoch nur mit homogenen Proben und löst diese auf zehn bis fünfzig Ångström genau auf. Wenig überraschend stammen lediglich zwei Prozent aller Einträge in der Strukturdatenbank ([rcsb.org](https://rcsb.org)) von DNA- und RNA-Strängen.

Konformationelle Flexibilität zeichnet auch virale Proteine aus. Für sie ist Anpassungsfähigkeit wichtiger als thermodynamische Stabilität – ungeordnete Proteinbereiche federn

schädliche Mutationen durch absichtlich fehleranfällige Polymerasen besser ab als starre Domänen. Mutiert ein virales Protein, verliert es im Durchschnitt weniger konformationelle Stabilität als seine pro- und eukaryotischen Gegenstücke. Ungeordnete Proteine erlauben es Viren außerdem, mehrere Immunkomponenten ihres Wirts zu beeinflussen, ohne ihr Genom vergrößern zu müssen.

Auch Unordnung in Proteinen kann weder kristallographisch oder elektronenmikroskopisch noch durch Homologie-Modellierung erfasst werden. Tatsächlich enthalten fünfundsiebzig Prozent aller Proteine in der Strukturdatenbank ungeordnete Bereiche ohne ver-



Der Koordinator des COVID-19-NMR-Konsortiums Harald Schwalbe bei einem Videodreh über das Projekt.

Foto: Covid-19-NMR

zeichnete Elektronendichte (*J. Biomol. Struct. Dyn.* 24(4): 25-42). Intrinsisch ungeordnete Proteine befinden sich sogar komplett im toten Winkel der Strukturaufklärung.

Diese strukturbioologischen Herausforderungen sind bei SARS-CoV-2 mit einer nie gekannten Dringlichkeit zur pharmakologischen Intervention verknüpft. Das RNA-Genom des Virus enthält 29.903 Nucleotide, die in 14 offenen Leserahmen (ORF) für 27 Proteine codieren. In den 5'- und 3'-untranslatierten Regionen (UTR) seines Erbguts finden sich mindestens 18 cis-wirkende RNA-Elemente, die die virale Replikation, subgenomische mRNA-Produktion und Translation regulieren.

Wenig ist über ihre Struktur-Funktions-Dynamik bekannt. Bisherige Strukturmodelle beruhen auf *In-silico*-Methoden der RNA-Strukturvorhersage, der Varianzanalyse von Begleitmutationen und Homologie-Modellen.

Auf Proteinseite sieht es besser aus. Viele der Struktur- und Nicht-Struktur-Proteine (NSP) von SARS-CoV-2 sind dank ihrer bis zu achtzigprozentigen Sequenzähnlichkeit zu SARS-CoV bekannt. Strukturmodelle existieren für die pharmakologisch bedeutsame 3C-ähnliche Protease (NSP5), RNA-abhängige RNA-Polymerase (NSP12), Endoribonuklease (NSP15) und die Rezeptor-bindende Domäne des *Spike* (S)-Proteins ([ncbi.nlm.nih.gov/Structure/SARS-CoV-2.html](https://ncbi.nlm.nih.gov/Structure/SARS-CoV-2.html)).

## Viel Unordnung

Ungeordnete Regionen enthalten laut Vorhersage-Werkzeugen zwei Drittel des Nukleokapsid-Proteins, ein Viertel des RNA-Polymerase-Co-Faktors NSP8, der C-Terminus des Interferon-Inhibitors ORF6 sowie alle Schnittstellen des Polyproteins 1, aus dem NSP1 bis NSP16 durch virale Proteasen herausgeschnitten werden (*Cell Mol. Life Sci.* doi: 10.1007/s00018-020-03603-x). Selbst das S-Protein als wesentlicher pharmakologischer Ansatzpunkt enthält mehrere molekulare Erkennungsmuster intrinsisch ungeordneter Proteine (*Infect. Genet. Evol.* 85: 104510). Für das antivirale Wirkstoffdesign stellen starre Strukturmodelle von SARS-CoV-2-Makromolekülen zweifelsohne Meilensteine dar. Doch kann es sich die Arzneimittelentwicklung leisten, intrinsische Unordnung zu missachten? Inwieweit treibt die konformationelle Variabilität viraler Bestandteile die COVID-19-Pathogenie an?

NMR-Spektroskopie ist das einzige biophysikalische Verfahren, das neben hochaufgelösten Strukturmodellen auch Informationen zu deren Dynamik bereitstellt. Dafür stehen verschiedene NMR-Observablen auf einer Zeitskala von Minuten bis Pikosekunden zur Verfügung – für die Diffusion von Megadalton-Komplexen über allosterische Konforma-

tionsänderungen bis hin zur Vibration chemischer Bindungen. Analysiert werden chemische NMR-Verschiebungen, differentielle Linienverbreiterungen, transversale und longitudinale Spin-Relaxationsraten, skalare und dipolare Kopplungen, Aspekte der chemischen Verschiebungsanisotropie, Sättigungstransferaten beispielsweise durch den Kern-Overhauser-Effekt, Protonen-Deuterium-Austauschraten und die paramagnetische Relaxationsbeschleunigung. Die Summe dieser Werte und Raten macht die Enthalpie- und Entropiebeiträge jedes Atoms eines Makromoleküls zur Thermodynamik und Kinetik des Gesamtsystems zugänglich.

„Wie könnte NMR zur Überwindung von COVID-19 beitragen?“, fragte sich deshalb Harald Schwalbe, stellvertretender geschäftsführender Direktor am Zentrum für Biomolekulare Magnetische Resonanz (BMRZ) der Goethe-Universität Frankfurt am Main, an einem Freitagnachmittag Ende März 2020. „Boris Fürtig, ein Habilitand unseres Instituts für Organische Chemie und Chemische Biologie, hatte die Frage gestellt, ob wir zur Erforschung von SARS-CoV-2 beitragen sollten. Das diskutierten wir übers Wochenende mit unseren Frankfurter Gruppenleitern Andreas Schlundt, Martin Hengesbach und Jens Wöhnert, mit der Darmstädter Expertin für RNA-Biochemie Julia Weigand und schließlich mit internationalen Kollegen. Alle waren dafür.“

Seitdem bilden sechs Forschungsgruppen des DFG-Sonderforschungsbereichs 902 „Molekulare Mechanismen der RNA-basierten Regulation“ den Kern des COVID-19-NMR-Konsortiums ([covid19-nmr.de](https://covid19-nmr.de)). Ihr Gesamtziel laut Schwalbe: „Wir untersuchen alle Proteine und alle regulatorischen RNAs von SARS-CoV-2 ohne ausreichende Strukturmodelle, ordnen ihre NMR-Signale zu und screenen sie mit pharmakologischen Molekülfragment-Bibliotheken.“

Insgesamt bearbeiten im Konsortium weltweit vierzig Arbeitsgruppen mit zweihundert Wissenschaftlern 12 Protein- und 18 RNA-Projekte, erklärt Schwalbe: „Die rekombinante Expression der Proteine ist neben uns auf acht Partnerstandorte verteilt. Alle RNA-Konstrukte haben wir in Frankfurt *in vitro* transkribiert und für NMR und Strukturanalyse teilweise zu unseren Partnern verschickt. Vier Monate lang belegten 45 PhD-Studenten und Postdocs die Hälfte unserer Frankfurter Laborfläche in zwei Schichten pro Tag an sieben Tagen die Woche mit den COVID-19-Projekten. Das war ein ganz neues Arbeiten, da die Morgenschicht ihre Projekte aufgrund der Pandemie-bedingten Personalbeschränkungen an die Nachmittagschicht weitergab. Durch umfangreiche Parallelisierung konnten wir so vier RNA-Konstrukte in NMR-tauglichen Mengen in zehn Tagen herstellen. Die NMR-Spektren

haben wir später über Zoom-Meetings zugeordnet. Ohne den Teamgeist jedes Einzelnen im Konsortium wäre diese Gemeinschaftsarbeit unmöglich gewesen!“

Alle NMR-Spektren und -Resonanz-Zuordnungen, unter anderem für das Nukleokapsid-Protein, den Protease-Komplex (NSP3), die 3C-ähnliche Protease (NSP5) und die Co-Faktoren der RNA-Polymerase (NSP7, NSP8), finden sich unter [covid19-nmr.de/results-2/](https://covid19-nmr.de/results-2/).

## Gewaltiges Unterfangen

Den größten Wissenszuwachs verzeichnet das Riesenteam indes auf Seiten des SARS-CoV-2-Genoms. Es stellt experimentelle Sekundärstrukturmodelle für 13 regulatorische RNA-Elemente der 5'- und 3'-Enden und für zwei RNA-Konstrukte des ribosomalen *Frame-Shift*-Segments im 20.000 Nucleotide langen ORF1a/b zur Verfügung (*Nucleic Acids Res.* in press). Den gewaltigen Umfang dieses Unterfangens würdigte *Nucleic Acids Research* mit einem *Breakthrough Paper Alert* ([narbreakthrough.com/category/2020-breakthrough-articles/](https://narbreakthrough.com/category/2020-breakthrough-articles/)).

Wie wenig NMR-Alltag all das ist, bezeugen vier Erfahrungswerte: (1) Die NMR-Resonanzen der vier chemisch ähnlichen RNA-Bausteine liegen in Protonenspektren nahe beieinander. Spektraler Überlapp macht Zuordnungen der Nucleobasen bei langen Sequenzen unmöglich. (2) RNA bevorzugt eher langgestreckte als globuläre 3D-Strukturen. Entsprechend lange Rotationskorrelationszeiten beschleunigen die transversale Relaxation von Protonen. Ihre NMR-Signale gehen verloren. (3) Die relative Orientierung multipler RNA-Sekundär-Strukturelemente wird durch Abstandsmessungen langer Reichweite zugänglich. Der Kern-Overhauser-Effekt (NOE) zwischen Protonen als das Flüssig-NMR-Arbeitspferd zur Abstandsmessung ist aber nur bis fünf Ångström vertrauenswürdig. (4) Nucleobasen enthalten weniger Protonen als Aminosäuren. Wenige Distanzeinschränkungen infolge mangelnder sequentieller Zuordnungen verschlechtern aber die Auflösung von 3D-Strukturmodellen.

## Erfahrung zahlt sich aus

Trotz dieser hohen Hürden kommt der Erfolg des COVID-19-NMR-Konsortiums laut seines Koordinators Schwalbe nicht von ungefähr: „Wir waren vorbereitet, weil wir über die letzten fünfzehn Jahre *Riboswitches* als die natürlichen Rezeptoren niedermolekularer RNA-Liganden untersucht haben. Dafür entwickelten wir eine Reihe von NMR-Experimenten, die anstelle von Protonen Heterokerne wie <sup>13</sup>C und <sup>15</sup>N detektieren. Das trägt jetzt Früchte.“



Als echte Fans von Eintracht Frankfurt benennen Schwalbes Mitarbeiter die RNA-Konstrukte für die NMR-Messungen nach Fußballern des Vereins.

Foto: COVID-19-NMR

re Linienbreiten so sehr, dass wir über Orientierung und Dynamik einzelsträngiger Regionen nur wenig lernen können.“

Warum ist der Protonenaustausch so schädlich für die NMR-Messung? Schwalbe fährt fort: „Auf der NMR-Zeitskala gibt es drei Arten an chemischem Austausch. Er kann langsam sein. Das resultiert in zwei unterschiedlichen Signalen für Zustand A und Zustand B. Er kann schnell sein. Dann zeigt das Spektrum ein gemittelt NMR-Signal bei der Populations-gewichteten Mitte der chemischen Verschiebungen beider Zustände. Aus beiden Alternativen lernen wir viel über die Dynamik des untersuchten Moleküls. Schlimm ist es aber im intermediären Austauschbereich, denn dort ist das NMR-Signal total verbreitert. Und genau dort befinden sich Imino-Protonen, auch weil sie sich mit dem Lösungsmittel austauschen.“

### Indirekte Informationen

Diese Problematik umgehen die RNA-Spektroskopiker, indem sie Imino-codierte Magnetisierung auf  $^{13}\text{C}$ -Kerne übertragen und dort detektieren. „Wir kommen einfach indirekt an Information über die Imino-Protonen heran. Da RNA-Nukleotide nur über wenige Protonen als Informationsquellen verfügen, verbessert das unsere Strukturmodelle beträchtlich.“

Für die meisten RNA-Elemente von SARS-CoV-2 beobachten die NMRler alle drei Austauschprozesse, vor allem am genomischen 5'-Ende und für eine *Attenuator*-Haarnadelstruktur im ribosomalen *Frameshift*-Segment von ORF1a/b (*Nucleic Acids Res.* in press). „Positions-genaue detektierte Dynamik erleichtert es natürlich ungemein, Interaktionen zu erkennen“, resümiert Schwalbe und leitet damit zu Phase 2 des Gesamtprojekts über: „Auf Basis der NMR-Datensätze screenen wir Substanzbibliotheken auf Bindung an unsere RNA- und Proteinzielmoleküle. Röntgenkristallographie und Kryo-EM sagen Strukturmo-

Denn  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -detektierte Experimente profitieren von den verstreuten chemischen Verschiebungen bei gleichzeitig schärferen Linienbreiten der Heterokerne. Während Protonen über 10 ppm verteilt sind, liegen  $^{13}\text{C}$ -RNA-Resonanzen zwischen 65 und 170 ppm, können also leichter unterschieden werden. Auch machen Heterokerne zuvor unsichtbare NMR-Resonanzen detektierbar wie etwa NOE-Kreuzpeaks zwischen den Aminogruppen von Nucleobasen und den Protonen von Ribosen.

### Verfeinerte Struktur

Da diese Resonanzen sequentielle und intermolekulare Kontakte beschreiben, verfeinern sie die Strukturberechnung von RNA beträchtlich. Zusätzlich reduziert die Kombination mit transversaler Relaxations-optimierter NMR-Spektroskopie (TROSY) die Linienbreiten langsam rotierender RNA. Die NMR-Spe-

zialisten des Konsortiums können deshalb selbst das 472 Nukleotide lange 5'-Ende und die 337 Nukleotide lange 3'-UTR in ihrer Gesamtheit anschauen. Ein *Review* der Arbeitsgruppe von Harald Schwalbe und Boris Fürtig beschreibt die Details, wie RNA-Resonanzen zugeordnet werden können (*Chemistry*, 26(1): 102-13).

Vor allem überwindet die  $^{13}\text{C}$ -Detektion den blinden Fleck der magnetischen RNA-Aufklärung. Der Weg dorthin führt indes weiter hinunter in den Kaninchenbau der NMR: Liganden binden meist an dynamische RNA-Abschnitte, also einzelsträngige Regionen in Schleifen und Ausbeulungen. „Diese Bereiche können Protonen-detektierte Experimente schlecht vermessen“, erklärt Schwalbe, „da sich die Imino-Protonen der Nucleobasen mit den Wasser-Protonen im Lösungsmittel in Austausch befinden. Denn im Einzelstrang sind sie ja nicht durch Wasserstoffbrücken geschützt. Dieser Austausch verschlechtert ih-

delle ja oft schneller und leichter vorher als NMR. Aber Hunderte Wirkstoffkandidaten können sie unmöglich testen, da sie Kristalle in Gegenwart jedes einzelnen Liganden benötigen. In NMR-Spektren selbst von kombinierten Liganden sehen wir direkt, welche Aminosäuren oder Nukleobasen wie affin binden.“

Wie schaffen die NMRler das? „Wir überprüfen jedes der 18 RNA-Konstrukte mit einer Bibliothek aus 768 Fragmenten, und zwar in Mischungen von je 12 Fragmenten in zwanzigfachen Überschuss“, fasst Schwalbe zusammen. „Pro RNA-Konstrukt benötigen wir für die 64 Spektren der Gesamtbibliothek einen Milliliter einer 200 mikromolaren NMR-Probe, drei Tage Messzeit plus zwei Tage für die Auswertung.“

Erst beträchtliche Vorarbeit macht ihren Ablauf so effizient, bestätigt Schwalbe: „Von allen 768 Fragmenten haben wir eigenständige 1D-Spektren aufgenommen, schon vor der Corona-Pandemie. Wir wissen also, wie chemisch sauber die Fragmente sind und bei welchen chemischen Verschiebungen ihre Signale auftauchen. Dadurch können wir sie ohne Überlapp vereinen. Verschiebt eine RNA ein Fragment-Signal, sehen wir sofort, welches Atom betroffen ist. Zusätzlich verbrei-

tern wir mit bestimmten Pulssequenzen – die einfachsten sind sogenannte T2-Filter – spezifisch die Signale gebundener Fragmente. Reduzierte oder verschwundene Peaks geben dann Aufschluss über die Stärke der RNA-Bindung. Zusätzlich wissen wir, ob sich ein Fragment-Signal infolge seines Zielmoleküls verändert, oder etwa degradiert oder aggregiert, weil sich das Fragment im Puffer des Zielmoleküls nicht löst. Falsch positive Ergebnisse, ein typisches Übel von *Screening*-Experimenten, verringert das beträchtlich.“

### Wirkstoffsuche mit NMR

Ihre *Chemically-Poised Fragment Library* ermöglicht außerdem eine einfache Folgechemie, ergänzt Schwalbe: „In Kooperation mit den RNA-Wirkstoffentwicklern von Saverona Therapeutics verbinden und modifizieren wir erfolgreiche Fragmente und testen auf verbesserte Affinität. Dank unserer NMR-Datensätze für alle 18 RNA-Konstrukte können wir Treffer für ein RNA-Element direkt mit der Spezifität für alle anderen RNA-Elemente abgleichen. Sobald wir die Bindungsstellen der besetzten Treffer bestimmt haben, titrieren wir sie

mit zunehmenden RNA-Mengen. Aus der sukzessiven Signalverschiebung in 2D-HSQC-Experimenten, also NMR-Standardwerkzeugen, lassen sich leicht Dissoziationskonstanten bestimmen. Leider schaffen wir es personell aber nicht, alle Treffer zu verfolgen. Wir mussten fünf der 18 RNA-Elemente anhand ihrer biologischen Relevanz priorisieren. Für die weitere Testung ihrer Ligand-Kandidaten würden wir gern Virologen im COVID-19-NMR-Konsortium begrüßen.“

Werden RNA-Liganden des Konsortiums je bis zur Anwendung reifen? – in Anbetracht von bereits vierhundert SARS-CoV-2-Wirkstoffkandidaten in klinischer Prüfung.

Natürlich fragt sich das auch Schwalbe: „Die langen RNA-Genome von Beta-Coronaviren mutieren allerdings selten. Anti-Corona-Wirkstoffe wären also im Allgemeinen hilfreich. Hätten wir SARS-CoV in der Vergangenheit besser verstanden, existierte vielleicht bereits ein SARS-CoV-2-Therapeutikum. Falls wir also ein wenig zum Verständnis der aktuellen Pandemie beitragen können, sind wir gegen SARS-CoV-3 besser gewappnet – hoffentlich umsonst!“

Henrik Müller

phcbi



## VIP ECO ULT-FREEZER - FÜR DIE SICHERSTE LAGERUNG IHRER PROBEN



- einzigartige Temperaturstabilität
- geringe Wärmeabgabe sowie niedriger Energieverbrauch
- langlebiger, drehzahlgesteuerter Kompressor
- elektronisches Druckausgleichsventil
- beheizte Türdichtungen zur Vermeidung von Eisbildung am Rahmen
- VIP-Plus Isolierung
- Optionale Hybrid-Wasserkühlung, welche auch bei Unterbrechung der Wasserversorgung einen störungsfreien Betrieb ermöglicht

➤ **ab Lager lieferbar**

**VIP-ECO ULT-Serie:** Ausgezeichnet mit dem Good Design Award – als einer der energieeffizientesten sowie leistungsstärksten -86°C Freezer weltweit.

MDF-DU502VH  
528L

MDF-DU901VHL  
845L

MDF-DU702VH  
729L

Weitere Informationen unter: [www.phchd.com/de/biomedical](http://www.phchd.com/de/biomedical)

## TIEFGEKÜHLTE ELEKTRONENMIKROSKOPIE

# Auf dem langen Weg zur Demokratisierung

Weil die gelösten Strukturen zu verschwommen waren, stand die Kryo-Elektronenmikroskopie lange Zeit im Schatten der Röntgenstrukturanalyse. Das ist inzwischen passé. Neue Elektronendetektoren und verbesserte Software liefern so hochaufgelöste Bilder, dass immer mehr Strukturbiologen auf die Kryo-EM umsteigen.

Im Januar 2016 wählte *Nature* die Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) zur „Methode des Jahres“ – obwohl die Technik schon lange bekannt war. Die wesentlichen Grundlagen dafür wurden in den Siebzigerjahren gelegt. Jacques Dubochet entwickelte während seiner Zeit als Gruppenleiter am EMBL in Heidelberg die Vitrifizierung, mit der sich Proben so schnell einfrieren lassen, dass sich keine schädigenden Eiskristalle bilden. Joachim Frank schrieb Software am *New York State Department of Health* in Albany, New York, um aus vielen EM-Bildern dreidimensionale Strukturen zu rekonstruieren. Und Richard Henderson vom *MRC Laboratory of Molecular Biology* in Cambridge publizierte 1975 die erste Proteinstruktur aus dem gekühlten Transmissions-Elektronenmikroskop (TEM), damals mit einer Auflösung von acht Ångström. Eine beinahe atomare Auflösung gelang ihm 1990.

Vor drei Jahren wurde den drei Wissenschaftlern dafür der Chemie-Nobelpreis verliehen. Der Grund, die Technik 2017 so besonders zu würdigen, war der gewaltige Fortschritt in der Auflösung der Bilder. Diese „Resolution Revolution“ (*Nature* 343: 1443) war in erster Linie der Entwicklung neuer Detektoren zu verdanken, die schneller sind und rauschärmere Bilder liefern als die bis dahin verwendeten Kameras.

Strukturbiologen verwenden die Elektronenmikroskopie bei sehr tiefen Temperaturen (mindestens minus 150 Grad Celsius) auf zweierlei Weise: Die Kryo-Elektronenmikroskopie setzen sie zur hochauflösenden Strukturanalyse einzelner Moleküle ein. Schauen sie damit aber in eine Zelle hinein und bilden größere Komplexe oder Organellen im zellulären Kontext *in situ* ab, sprechen sie von Kryo-Elektronentomographie (Kryo-ET).

## Verschiedene Blickwinkel

Da Elektronenmikroskope grundsätzlich nur zweidimensionale Projektionen liefern, rekonstruiert man die dreidimensionalen Strukturen mit Bildern aus verschiedenen Blickwinkeln. Bei der Kryo-ET kippt man dafür den gesamten Probenhalter und nimmt rund 60 Bilder aus verschiedenen Blickwinkeln auf. Die Kryo-EM kommt dagegen mit einem Bild aus, denn auf dem Probenhalter werden Moleküle

ja in allen möglichen Orientierungen abgelagert und festgefroren – zumindest in der Theorie. Praktisch verhalten sich manche Proben anders, und immer macht einem der schlechte Kontrast einen Strich durch die „Ein-Bild“-Rechnung.

Kontrast ist ein essentielles Thema bei der Arbeit mit einem TEM. Egal, ob man sich für einzelne Moleküle oder eine 30 Mikrometer große Zelle interessiert: Das Bild aus dem TEM resultiert grundsätzlich aus der Differenz der Elektronendichte in den Proben und dem sie umgebenden Eis. Leider ist diese Differenz nicht besonders groß, die Bilder sind also sehr verrauscht. Deshalb kämpft der Strukturbiologe mit vielen Mitteln um ein möglichst hohes Signal-Rausch-Verhältnis. Die Option, einfach den Elektronenstrahl und somit das Signal zu verstärken, fällt flach, denn die Elektronen würden jede biologische Probe zerstören. Also gilt es, das Rauschen zu minimieren, was sowohl auf Seiten des Geräts mit Detektoren und Linsenkorrektoren, wie auch auf Seiten der Bildverarbeitung geschieht.

„Tatsächlich mitteln wir viele sehr verrauschte Bilder, bis ein Motiv scharf erscheint“, sagt Bettina Böttcher, Spezialistin für Kryo-EM am Lehrstuhl für Biochemie der Universität Würzburg. „Betreibt man aber die Bearbeitung zu intensiv oder auf der Basis falscher Referenzen, erhält man falsche Bilder – was man in der Szene als ‚Einstein-von-Rauschen‘-Effekt bezeichnet. Deshalb wurden statistische Faktoren in die Software eingeführt, die die gefundene Lösung mit ihrer Wahrscheinlichkeit, korrekt zu sein, gewichten. In der Realität ist das ein ziemlich komplizierter Prozess.“

Je weniger Bilder man mitteln muss, um das Signal vom Rauschen zu unterscheiden, desto geringer die Gefahr, falsche Bilder zu generieren. Am besten arbeitet man von Beginn an mit möglichst kontrastreichen Bildern. Hier kommen die neuen Sensoren ins Spiel. Sie detektieren die Elektronen direkt und produzieren weniger Rauschen als die zuvor verwendeten CCD- und CMOS-Kameras. In Letzteren werden die Elektronen von Szintillatoren in Photonen und danach wieder in Photoelektronen verwandelt. *Direct Electron*-Detektoren (DED), auch *Direct Detection Device* (DDD) genannt, sind nichts anderes als CMOS-Chips, die auch in den Kameras von Mobilte-

lefonen verbaut werden. Um sie im EM verwenden zu können, müssen sie jedoch größere Pixel haben und gegen die Elektronenstrahlen „abgehärtet“ werden. Der Markt wird von den Firmen GATAN, FEI Thermo Fisher und Direct Electron beherrscht, andere Hersteller gibt es aktuell nicht.

Der DED zählt jedes einzelne Elektron und generiert hierdurch nicht nur rauschärmere Bilder. Mit bis zu 1.500 *Frames* pro Sekunde ist er auch viel schneller als ein CCD. „In der Geschwindigkeit liegt die Magie der neuen Detektoren“, sagt Böttcher. „Nur so können einzelne Elektronen getrennt von anderen detektiert und die Gesamtbelichtungszeiten im Bereich einiger Sekunden gehalten werden.“

Auch lässt sich mit einem DED die zunehmende Schädigung der Probe von Bild zu Bild verfolgen. Die Schäden verursachen Rauschen, wodurch sich die Auflösung verschlechtert. Böttcher: „Wir können dieses Rauschen reduzieren, indem wir entsprechend der Schädigung die einzelnen Bilder bei der Rekonstruktion des Moleküls unterschiedlich gewichten. Das heißt, wir lassen die ersten *Frames* mehr zu der Struktur beitragen als die letzten. Das funktioniert schon mit unserem älteren, vergleichsweise langsamen Detektor, der nur 40 *Frames* pro Sekunde schafft.“

## Weniger Rauschen

Einen Beitrag zum Bildrauschen liefern auch intakte Moleküle. Sie bewegen sich nämlich während der Messung, und zwar besonders stark beim ersten Kontakt mit dem Elektronenstrahl. Das lässt sich nachträglich minimieren, indem man die jeweilige Position der Moleküle in den ersten *Frames* bestimmt und entsprechend korrigiert.

Routinemäßig rechnet man mit einer Software möglichst viel störendes Rauschen heraus. Auf diese Weise erreichen erfahrene Strukturbiologen eine Auflösung von 3 Ångström. Damit kann man zwar Atome noch nicht sehen, aber man kann ein atomares Modell konstruieren, das eine Aussage über die Position einzelner Atome zulässt. Dabei fließen neben der berechneten 3D-Abbildung noch weitere Informationen ein, beispielsweise die Aminosäuresequenz sowie Bindungswinkel und -längen.

Manche Forscher geben sich mit 3 Ångström nicht zufrieden und treiben die Auflösungsgrenze immer weiter. Den Rekord von 1,25 Ångström halten aktuell die Gruppen von Holger Stark am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen und von Sjors Scheres am *Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology* in Cambridge (*Nature*, doi:10.1038/s41586-020-2833-4 und *Nature*, doi:10.1038/s41586-020-2829-0). Bei dieser Genauigkeit kann man sogar die kleinen Wasserstoffatome „sehen“.

Die große Herausforderung der Kryo-EM ist und bleibt allerdings die Probenpräparation. Man muss sein Molekül möglichst schonend und intakt isolieren, um es dann auf eine kleine Probenhalterung aufzubringen und in flüssigem Ethan in Windeseile einzufrieren. Vitrifizieren nennt man diesen Vorgang, bei dem das in der Probe enthaltene Wasser nicht kristallisiert, sondern glasartig erstarrt und dabei keine schädigenden Kristalle bildet. Die Eisschicht muss so dick sein, dass sie die Moleküle völlig umschließt. Größere Moleküle benötigen also dickere Eisschichten, die wiederum das Signal-Rausch-Verhältnis verschlechtern.

„Manche Proben lassen sich leider nicht intakt vitrifizieren. Das ist ein großes Problem“, sagt Böttcher. „Wir hatten schon Moleküle, die im EM vor dem Einfrieren sehr gut aussahen, aber danach war kein einziges intaktes Molekül mehr übrig, auf dem *Grid* sah es aus wie auf einem Schlachtfeld.“ Solche Geschichten kann wohl jeder erzählen, der sich mit Kryo-EM und Einzelpartikel-Analyse beschäftigt. Die Forscher hätten bisher keine Eigenschaft identifizieren können, die vorhersagen lässt, wie sich ein Molekül bei der Vitrifizierung verhalten wird, so Böttcher. Anderer Meinung ist Stark. Er glaubt, dass sich dieses Problem lösen lässt, wenn man auf jedwede Art von Chro-

matografie verzichtet (siehe hierzu das Interview mit Holger Stark auf Seite 48).

Schließlich muss sich der Strukturbiologe auch mit der Probenhalterung, dem *Grid*, beschäftigen. Dieses wenige Millimeter große, sehr empfindliche Gebilde besteht aus einem ringförmigen Rahmen und einer dazwischen aufgespannten Folie, auf der die Moleküle liegen. Es werden verschiedene Geometrien und Materialien verwendet. Gerne nimmt man dafür Gold, weil sich die Moleküle darauf weniger bewegen als auf anderem Material. „Diese *Grids* sind so weich, dass sie sich verbiegen, wenn man sie nur mit der Pinzette anfasst“, berichtet Florian Schur vom *Institute of Science and Technology (IST) Austria* in Klosterneuburg. Er und sein Team entwickelten deshalb einen Adapter, in den der *Grid* gelegt wird, damit man ihn während der Probenvorbereitung nicht mehr direkt berühren muss. Der Adapter kommt preiswert aus dem 3D-Drucker. Schur: „Wir kultivieren beispielsweise Zellen direkt auf den *Grids* in 6-Well-Platten. Weil die *Grids* oft aufschwimmen, müssen wir sie fixieren. Hier zeigt sich der große Vorteil des Adapters.“

### Auch für kleinere Moleküle

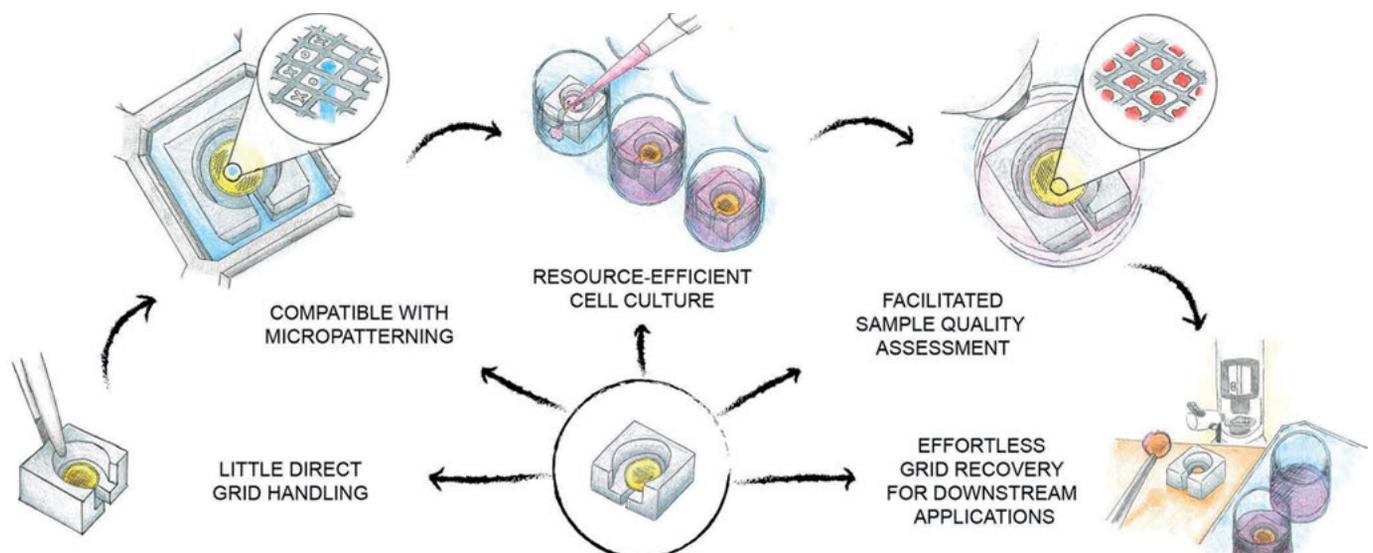
Kryo-EM eignet sich sehr gut für Moleküle, die weder besonders groß noch sehr klein sind. Mit Molekulargewichten von weniger als 150 kDa tut man sich mit dieser Technik schwer. Noch, müsste man vielleicht sagen. Denn Radostin Danev entwickelte während seiner Zeit am Max-Planck-Institut für Biochemie in München eine sogenannte Volta-Phasenplatte. Damit konnten er und seine Kollegen die Struktur des nur 64 kDa großen menschlichen Hämoglobins mit bis zu 3,2 Ångström Auflösung rekonstruieren (*Nat. Commun.* 8: 16099).

Im letzten Jahr gelang dies Forschern in La Jolla auch ohne eine Phasenplatte (*Nat. Commun.* 10: 1032).

Von besonders kleinen Molekülen kommen wir zu den mehrere Nanometer großen, komplexen Strukturen. Molekülkomplexe wie Ribosomen, Kernporen oder Nukleoli, Organellen und sogar das Zytoskelett lassen sich mit Kryo-Elektronentomografie (Kryo-ET) abbilden – sogar in ihrem zellulären Umfeld. So entdeckte beispielsweise das Team um Tomografie-Altmeister Wolfgang Baumeister vom Max-Planck-Institut für Biochemie in München, dass nukleäre Proteasomen an die Poren des Zellkerns andocken, wo sie als Türsteher fungieren und defekte Proteine abfangen können (*PNAS* 114: 13726).

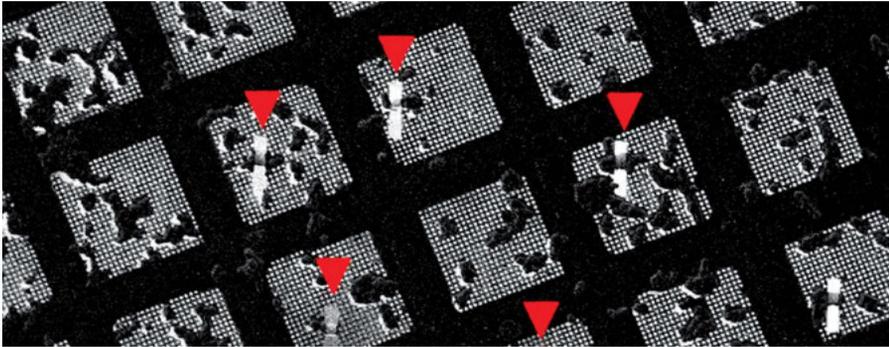
Forscher aus Berlin, Heidelberg und Göttingen analysierten ein bakterielles Expressosom, das sowohl transkribiert als auch translatiert. Es besteht aus einem Ribosom, einer RNA-Polymerase und Transkriptions-Elongationsfaktoren. Die Forscher stellten anhand der Struktur fest, dass sich das Expressosom umbaut oder sogar ganz auseinanderfällt, wenn nur einer der beiden Prozesse unterbrochen wird (*Science* 369: 554).

Ganz aktuell sind die Elektronentomogramme der *Spike*-Proteine von SARS-CoV-2, die Forscher in Heidelberg, Frankfurt, Mainz und Langen veröffentlichten (*Science* 370: 203). 20 bis 40 *Spikes* sitzen auf der äußeren Hülle des Pathogens und bewerkstelligen die Bindung an die ACE2-Rezeptoren menschlicher Zellen. Die Proteine sind über drei Gelenke mit der Virushülle verbunden. Es ist denkbar, dass sie dank ihrer Flexibilität die Oberfläche einer Wirtszelle nach dem passenden Rezeptor regelrecht absuchen. Eine starke Glykosylierung schützt die Moleküle vor einem Angriff durch Antikörper.



Florian Schurs Gruppe in Klosterneuburg konstruierte eine praktische Probenhalterung für die empfindlichen Cryo-EM-Grids.

Illustration: Dorotea Frachiolla



Ein von Martin Pilhofers Gruppe an der ETH Zürich entwickeltes FIB steuert die Zellen auf dem Grid automatisch an. Mithilfe eines Ionenstrahls trägt es Schicht um Schicht ab, bis eine hauchdünne Lamelle übrig bleibt (rote Dreiecke), die mit dem Kryo-Elektronentomographen visualisiert wird.

Illustration: Gruppe Pilhofer

„Kryo-Elektronentomografie schließt die Lücke zwischen Strukturbiologie und Zellbiologie“, sagt Martin Pilhofer vom Institut für Molekularbiologie und Biophysik an der ETH Zürich. Diese Technologie wurde in den letzten Jahren ebenfalls deutlich besser und anwenderfreundlicher. Auch sie profitiert von den neuen Detektoren. Zusätzlich bedurfte es aber der Entwicklung spezieller Tomografie-Software und schnellerer Grafikkarten, die mit den großen Datensätzen umgehen können. Die Zellen werden im vitrifizierten Eis hervorragend konserviert, die Tomogramme zeigen Schnappschüsse aus ihrem wahren Leben.

Allerdings ist eine Zelle zu dick für die direkte Mikroskopie. Zum Verschlanken verwendet man eine Methode namens *Focused Ion Milling*, kurz FIB. Dabei wird ein fokussierter Ionenstrahl wie ein Sandstrahler eingesetzt, der von zwei Seiten Schicht um Schicht von der Zelle abträgt, bis nur noch eine 200 bis 300 Nanometer dicke Lamelle übrig ist. Diese Kryo-FIBs kann man heute zwar kaufen, Forscher streben aber nach weiteren Verbesserungen, beispielsweise Automatisierung.

Eine automatische FIB bauten Pilhofer und sein Team auf. „Unsere FIB kann Zellen an verschiedenen Positionen auf dem Grid automatisch ansteuern und an jeder Zelle alle Ätzschritte nacheinander abarbeiten“, erklärt Pilhofer. „Das beschleunigt das Experiment deutlich und man muss auch nicht dauernd am Gerät sitzen.“

## Gemittelte Sub-Tomogramme

Die Wissenschaftler untersuchen, wie Bakterien untereinander und mit anderen Organismen kommunizieren. Filamentöse Cyanobakterien beispielsweise sind zwar individuelle Zellen, bilden aber mehrzellige Strukturen. Über bisher wenig untersuchte Kanäle treten sie miteinander in Kontakt und tauschen Stoffe aus. Das Elektronentomogramm enthüllte nicht nur die etwa 50 Nanometer langen, verbindenden Kanäle, sondern auch unbekannte Strukturen an den Enden dieser Kanäle (*Cell*

178: 374). Aus sogenannten gemittelten Sub-Tomogrammen ermittelten die Forscher eine höher aufgelöste Abbildung dieser Gebilde. Es zeigte sich, dass an beiden Öffnungen jedes Kanals in Höhe der Zellmembran Stopfen sitzen. Über diesen thronen im Zytoplasma Kappen, die wie Zahnräder mit fünf Zähnen aussehen. „Wir konnten zeigen, dass ein gestresstes Bakterium den Kanal mit den Stopfen und Kappen schließen und die Kommunikation unterbrechen kann. So kann es verhindern, dass die ganze Kolonie geschädigt wird, wenn es verletzt oder mit einer toxischen Substanz kontaminiert wird“, erklärt Pilhofer.

Die Mittelung von Sub-Tomogrammen ist ein Werkzeug, um aus einem weniger gut aufgelösten Bild eine hochaufgelöste Struktur zu rekonstruieren. Diese Arbeitsweise ist nicht neu, aber die Möglichkeiten dazu waren lange begrenzt. „Die Struktur entsteht durch die Mittelung von Ausschnitten der Bilder. Da ich für ein Tomogramm nur eine Probe messe, muss diese viele Kopien der betreffenden Struktur enthalten. Die Kunst ist, diese Kopien aufzuspüren, zu identifizieren und deren Orientierungen zu bestimmen“, sagt Schur. Als er noch in der Arbeitsgruppe von John Briggs am EMBL in Heidelberg war, entwickelte er die passende Software weiter und publizierte von einem viralen Gag-Protein die erste aus Sub-Tomogrammen entwickelte Struktur mit Subnanometer-Auflösung (*J. Struct. Biol.* 184: 394). Später konnte er am Beispiel eines viralen Capsid-Proteins zeigen, dass sich die Auflösung mit einem DED auf 3,9 Ångström verbessern ließ (*Science* 353: 506).

Die Lokalisierung spezifischer Moleküle oder einzelner Viren und Phagen in Zellen ist schwierig, denn die Moleküle werden für die EM nicht markiert. Die Lösung dieses Problems ist die Kombination von Fluoreszenzmikroskopie bei unter minus 140 Grad Celsius und Kryo-ET. Die Fluoreszenzsignale, die man von der bereits vitrifizierten Probe aufnimmt, verraten die Position der gesuchten Partikel, sodass man sie im EM gezielt anfahren kann. Für Kryo-ET und Kryo-EM sieht die Zukunft

ziemlich rosig aus. Das dürfte auch FEI Thermo Fisher Scientific und Jeol freuen, die die hochleistungsfähigen 300-kV-Geräte herstellen. Zeiss stieg vor vielen Jahren aus dem Geschäft mit Transmissions-Elektronenmikroskopen aus. Vielleicht ärgert man sich in Oberkochen heute darüber.

Allerdings wird sich nicht jede Universität so ein Gerät leisten können. Die Mikroskope kosten nicht nur etliche Millionen Euro. Die tonnenschweren Apparate benötigen auch spezielle Räume mit verstärkten Böden und besonderer Abschirmung, die vor der hohen Spannung schützt. Obendrein schlägt der Unterhalt mit über 3.000 Euro täglich zu Buche. Daher setzt man in vielen Ländern auf Zentralisierung der Expertise und der Ausstattung. Am *Simons Center* in New York stehen beispielsweise sieben dieser Hochleistungsgeräte. Trotzdem muss man auf Messzeit warten, beklagten kürzlich Forscher in *Science*. Einer berichtete frustriert, dass er, nachdem er endlich Messzeit bekommen hatte, feststellen musste, dass seine Proben nicht viel taugten. Mit neuen Proben musste er sich wieder in die Warteschlange einreihen.

## Cryo-EM für alle

Dieses Problem könnte allerdings mit der von einigen Wissenschaftlern geforderten „Demokratisierung“ der Kryo-EM gelöst werden. Sie glauben, dass auch weniger teure 100-kV-Geräte mit geringerer Leistungsfähigkeit aber spezieller Ausstattung schon viele wertvolle Beiträge zu strukturellen Fragen liefern können. Mit diesen könnte man nicht nur die Qualität seiner Probe vor dem Auftritt im 300-kV-Mikroskop überprüfen – Richard Henderson und seine Kollegen in Cambridge sind davon überzeugt, dass diese Geräte auch brauchbare Daten generieren.

Glauben ist aber nicht wissen. Die Gruppe demonstrierte deshalb anhand von fünf bereits gut analysierten Proteinen mit Molekulargewichten von 64 kDa bis 4,5 MDa, dass man auch den kleineren Geräten Bilder entlocken kann, aus denen sich gute Strukturen rekonstruieren lassen (*IUCr* 6: 1086). Die Auflösung war bei dieser Studie im Wesentlichen durch den Detektor limitiert, der nicht schnell genug arbeitete und dessen Pixel zu klein waren.

In einer E-Mail an die Autorin schrieb Henderson: „I may have said previously that we are trying bribery, bullying and blackmail, but in the end it may be that it is persuasion, plus the weight of scientific proof, that will work.“ An diesem wissenschaftlichen Beweis arbeitet Henderson zusammen mit seinem Kollegen vom MRC Christopher Russo. „Bis zur Verwirklichung wird es aber“, so Henderson, „noch einige Jahre dauern.“

Karin Hollricher



# SCIEX 7500 System



The Power of Precision

**GO BEYOND** robustness with breakthrough innovation...

## INCOMPARABLE

**GO BEYOND** sensitivity. Built with D Jet™ Ion Guide and integrated E Lens™ Technology, the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready enables you to experience up to 7x increased sensitivity. Start detecting the previously undetectable and quantify at lower levels with impressive precision.

Visit <http://sciex.com/7500>



## INGENIOUS

**GO BEYOND** your laboratory's current capabilities. Characterize analytes that were once masked by matrices using the D Jet Ion Guide. The unique design of the ion guide retains and captures more of the ion plume. The evolution of the Turbo V™ Ion Source, the OptiFlow® Pro Ion Source, simplifies sample prep and utilizes E Lens Technology to sample more ions, so you can get more from your ESI workflows.



## PRODUCTIVE

**GO BEYOND** and expand your lab's potential to a new dimension of efficiencies, compound analysis and sample testing. The SCIEX 7500 System is powered by SCIEX OS Software, a platform for this next generation of mass spectrometers. Experience intuitive software features and functions that are complemented by visual aids and components to enable quick, accurate and confident data review on the SCIEX 7500 System.



The QTRAP-enabled functionality opens up the SCIEX Triple Quad to a world of possibilities with MS/MS confirmation, enhanced selectivity with multiple reaction monitoring with multistage fragmentation (MRM<sup>3</sup>) and enhanced product ion (EPI) scan types.

**GO BEYOND** with the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready.

GO **BEYOND**

The SCIEX clinical diagnostic portfolio is For In Vitro Diagnostic Use. Rx Only. Product(s) not available in all countries. For information on availability, please contact your local sales representative or refer to <https://sciex.com/diagnostics>. All other products are For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures. Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein, including associated logos, are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners in the United States and/or certain other countries. Echo and Echo MS are trademarks or registered trademarks of Labcyte, Inc. in the United States and other countries, and are being used under license. The images shown may be for illustration purposes only and may not be an exact representation of the product and/or the technology. Plates are available from Beckman Coulter Life Sciences. © 2020 DH Tech, Dev. Pte. Ltd. Related to RUO-MKT-03-11712-A. AB SCIEX™ is being used under license.

## CRYO-ELEKTRONENMIKROSKOPIE MIT ATOMARER AUFLÖSUNG

# Strukturen sehen statt vermuten

*Holger Stark studierte Biochemie in Berlin, in den Neunzigerjahren die Hochburg der Elektronenmikroskopie. Ernst Ruska, ihr Erfinder, war sein „Doktor-Großvater“. Heute ist Stark Direktor der Abteilung Strukturelle Dynamik am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen. Er analysiert die Struktur von Proteinen und kann sich für die Technologie ebenso begeistern wie für die biologischen Fragen, die man damit beantworten kann.*

*Sie haben Biochemie studiert, sich aber auch sehr viel mit der Entwicklung und Verbesserung von Hard- und Software beschäftigt, die man für Kryo-Elektronenmikroskopie benötigt. Wie kam das?*

**Holger Stark** » Ich habe mit der Kryo-Elektronenmikroskopie angefangen, als die Technologie dafür noch in den Kinderschuhen steckte. In Berlin, wo Ernst Ruska arbeitete, waren viele Physiker und Entwickler, die etwas von Elektronenoptik verstanden, darunter mein späterer Doktorvater Marin van Heel. Marin war eine der beiden Personen, die die Bildverarbeitungsmethoden entwickelt haben. Der andere war Joachim Frank. Beide haben parallel die ersten Arbeiten gemacht. Frank hat den Nobelpreis bekommen, aber ich finde, van Heel hätte den genauso verdient gehabt. Ich habe also Kryo-Elektronenmikroskopie und Bildverarbeitung von Grund auf gelernt. Es kam mir all die späteren Jahre extrem zugute, Biochemie studiert und eine lange Ausbildung bei Physikern genossen zu haben. Forschern fehlt es heute leider oft am Verständnis für methodische und technologische Entwicklungen, während die Techniker meistens nicht so sehr an den Anwendungen interessiert sind. Bei mir war das anders: Was ich methodisch entwickelt habe, hatte immer einen biologischen Hintergrund. Ich war zum richtigen Zeitpunkt am richtigen Ort mit den richtigen Leuten – und daher war es eine super Zeit.

**»Wir haben zwei Fehler korrigiert: die sphärische Aberration und den chromatischen Fehler.«**

*Gerade ist ein neues Paper Ihrer Arbeitsgruppe in Nature erschienen. Darin beschreiben Sie, dass man mit Kryo-Elektronenmikroskopie jedes Atom eines Proteins sehen kann. Wie haben Sie die dafür notwendige Auflösung von 1,25 Ångström hinbekommen?*

**Stark** » Wir haben gemeinsam mit Firmen ein besseres Mikroskop gebaut und die Bildqualität verbessert, indem wir Abbildungsfehler reduzierten. Optische Fehler entstehen nämlich in Elektronenmikroskopen genauso



Holger Stark

Foto: MPI für biophysikalische Chemie

wie in Lichtmikroskopen als Resultat von Limitierungen und Fehlern in den Linsen. Wir haben zwei Fehler korrigiert: die sphärische Aberration und den chromatischen Fehler.

**Was ist der sphärische Fehler der Elektronenmikroskopie?**

**Stark** » Magnetische Linsen verhalten sich ähnlich zu Glaslinsen in der Lichtmikroskopie mit ähnlichen Fehlerquellen. Wenn die Strahlen die Randzone einer Linse passieren, werden sie stärker gebrochen als diejenigen, die durch die Mitte gehen. Deshalb treffen sie sich nicht in einem definierten Fokuspunkt. Wie weit sich dieser Punkt verbreitert, wird durch den sphärischen Fehler beschrieben. Das lässt sich korrigieren. Einen solchen Korrektur zur Bildgebung von biologischen Proben im Transmissionselektronenmikroskop, hat Max Haider von der Firma Ceos entwickelt. Dafür wurde er gemeinsam mit Harald Rose und Knut Urban mit zwei sehr bedeutenden Preisen ausgezeichnet, nämlich 2001 mit dem Wolf Prize und dieses Jahr mit dem Kavli-Preis. Wir haben mit Haider und FEI nun ein Gerät entwickelt, das diese sphärische Abberation und den damit verbundenen Fehler, den man Koma nennt, korrigiert. Dieses Mikroskop ist der erste Aplanat der Kryo-EM.

*Und was ist mit dem erwähnten Farbfehler?*

**Stark** » Diese sphärische Korrektur benötigt leider viele Linsen, was den sogenannten chromatischen Fehler erhöht. In der Lichtmikroskopie spricht man von Farbfehler. Darunter versteht man, dass Photonen verschiedener Wellenlängen unterschiedlich von einer Linse gebrochen werden. Das Gleiche passiert beim Elektronenmikroskop: Elektronen, die im EM aus der kleinen Spitze beschleunigt werden, haben nicht alle die exakt gleiche Wellenlänge beziehungsweise Energie. Mit einem Monochromator kann man alle Elektronen nach Energie sortieren. Mit all diesen baulichen Veränderungen erhöht man die optische Qualität der Bilder und damit die maximal erreichbare Auflösung der Maschine massiv.

*Sie könnten Bildfehler natürlich auch in der Software korrigieren.*

**Stark** » Es gibt zwei Lager im Feld: diejenigen, die mit Software alles Mögliche korrigieren wollen, sowie die Verfechter der besseren Hardware, die die besseren Bilder aus dem Mikroskop holen wollen. Aufgrund meiner Erfahrung glaube ich, Hardware schlägt Software und wenn es eine Hardware-Lösung gibt, dann sollte man sie auch verwenden.

**Warum?**

**Stark** » In der Software stecken so viele Parameter und Annahmen, dass man die Fehlerbalken nicht kennt. Man korrigiert einen Fehler, ohne zu wissen, wie fehlerhaft diese Korrektur selbst ist. In der Fotografie ist es ja heutzutage gang und gäbe, Bilder deutlich nachzubearbeiten. Wenn man aber die Datengrundlage zu stark verändert, entspricht das damit generierte Bild nicht mehr zwingend dem realen Motiv.

*In der Fotografie ist das egal oder sogar aus künstlerischen Gründen gewollt.*

**Stark** » Eine ähnliche Gefahr besteht in der EM. Aber hier ist ein solches *Overfitting* ein Desaster. Warum? Weil es Auflösungen vorgaukeln kann, die gar nicht da sind. Ich kann mit einer Auflösung von 3 Ångström atomare Modelle von Proteinen bauen. Dies gelingt aber nur, weil ich Annahmen darüber mache, wie die Chemie eines Proteins aussieht und anhand dieser Annahmen werden einzelne Ato-

me platziert, ohne dass man sie als einzelne Atome sieht. Aus der Kristallografie weiß ich beispielsweise bereits, welche Bindungslängen und -winkel bei chemischen Verbindungen möglich und erlaubt sind. Dieses Wissen verwende ich beim Bauen und Verfeinern eines atomaren Modells anhand einer 3D-Struktur bei 3 Ångström Auflösung. Aber echte atomare Modelle von biologischen Molekülen und ihren Mechanismen lassen sich nicht aus einer schlechter aufgelösten Struktur extrapolieren. In der Kristallografie gibt es genügend Beispiele, wo man versucht hat, einen chemischen Reaktionsmechanismus aus einer Struktur mit 2 oder 3 Ångström Auflösung abzuleiten. Als man dann höhere Auflösungen bekam, stellte man fest, dass diese Interpretationen falsch waren.

#### Warum ist das so?

**Stark** » Ein Enzym oder Protein funktioniert nicht nach Prinzipien der Standard-Chemie. Im funktionalen Zentrum des Moleküls ist die chemische Normalität aufgehoben. Da gibt es längere und verbogene Bindungen und Winkel, die normalerweise verboten sind. Genau das aber führt zu der chemischen Reaktion. Wenn ich solche Eigenschaften sehen will,

muss ich jedes einzelne Atom abbilden können, um den Mechanismus der Maschine und ihre Reaktion zu verstehen. Das ist auch wichtig für das Verständnis der Funktion von Inhibitoren im Wirkstoff-Design. Darum ist es notwendig und sinnvoll, in bessere Hardware zu investieren und ein Kryo-EM zu entwickeln, das tatsächlich Abbildungen mit atomarer Auflösung liefert, bei der man jedem Detail in der Protein-Dichtekarte trauen kann.

*»Wir stecken jetzt natürlich jeden Komplex, mit dem wir auch bisher schon gearbeitet haben, in unser neues Mikroskop.«*

*Sie haben den Proof-of-Principle mit Apoferritin gemacht. Dieses Molekül ist sehr strukturiert, geordnet und somit exzellent geeignet für die Kryo-EM. Was ist mit ungeordneteren Molekülen mit geringerer Symmetrie?*

**Stark** » Die Kollegen am *Laboratory of Molecular Biology* im britischen Cambridge haben schon vom GABA-Rezeptor eine hochaufgelöste Struktur bekommen. Wir stecken jetzt

natürlich jeden Komplex, mit dem wir auch bisher schon gearbeitet haben, in unser neues Mikroskop. Aktuell haben wir Daten zu einer Fettsäuresynthese und dem Proteasom. Beide sind größer als Apoferritin und in ihrer Struktur beweglicher. Größe ist ein kritischer Punkt, weil man dann mit dickeren Eisschichten arbeiten muss, in denen die Moleküle auf dem Probenhalter eingefroren sind. Die Dicke der Eisschicht beeinflusst die Auflösung. Obendrein haben diese großen Komplexe mehr interne Flexibilität, was die Schwierigkeit erhöht, eine hochaufgelöste Struktur zu bestimmen, da nicht alle Moleküle exakt gleich aussehen.

*Wie weit sind Sie dann in Sachen Auflösung gekommen?*

**Stark** » Die beste EM-Struktur für das humane 20S-Proteasom hat bisher eine Auflösung von etwa 2,6 Ångström. Wir haben jetzt eine mit 1,8 Ångström. Für die Fettsäuresynthese haben wir die Auflösung von 2,8 auf 1,9 Ångström verbessern können. Das Spleißosom, dessen Struktur bisher auf 3,2 Ångström Auflösung abgebildet wurde, ist unser nächster Kandidat. Dafür erwarte ich auch eine deutliche Verbesserung.

accelerating medical innovation



## m<sup>4</sup> Award 2021

create the future of medicine



6. Ausschreibung des bayerischen Pre-Seed Wettbewerbs für die Medizin der Zukunft

#### Einreichungstermine

Kurzbeschreibungen: 13. März 2021

Projektskizzen: 9. Juni 2021

Gefördert durch

Bayerisches Staatsministerium für  
Wirtschaft, Landesentwicklung und Energie



[www.m4-award.org](http://www.m4-award.org)

*Ein Ångström hin oder her, was genau bedeutet das in der Welt der biologischen Chemie?*

**Stark** » Ich will das mal so verdeutlichen: Die Verbesserung der Auflösung von 3 auf 1 Ångström steigert die Information in den Dichtekarten um fast das Dreißigfache. Das ist gewaltig viel. Bei unter 2 Ångström beginnt eine ganz neue Welt: Man beginnt, wichtige chemische Details zu sehen statt sie nur zu vermuten. Bei 1,9 oder 1,8 Ångström sind wir noch

*»Die Verbesserung der Auflösung von 3 auf 1 Ångström steigert die Information in den Dichtekarten um fast das Dreißigfache.«*

nicht am Ende. Mit Statistik können wir die Auflösung eventuell noch auf 1,5 Ångström bringen. Allerdings ist wohl bei 1 Ångström eine Grenze, die wir mit den bisherigen Geräten nicht brechen können. Dafür müssen wir die Hardware nochmals weiter verbessern.

*Sie konzentrieren sich hier auf größere Molekülkomplexe. Was ist mit kleineren Strukturen?*

**Stark** » Man könnte vermutlich auch Moleküle mit 100 bis 200 Kilodalton mit unserem Gerät abbilden, wenn wir noch einen Energie-

filter einbauen, wie ihn die Gruppe in Cambridge verwendet hat. So ein Filter verbessert den Kontrast, indem er gezielt Signale entfernt, die mehr zum Rauschen als zum Signal beitragen. Noch kleinere Proteine kann man meistens sehr gut kristallisieren und dann mit Röntgenkristallografie analysieren. Auch aus biologischer Sicht sind solche kleinen Moleküle für mich persönlich nicht so spannend. Interessant sind Proteine im 200-kD-Regime, denn da gibt es unheimlich viel Biologie, beispielsweise viele Membranproteine. Und die lassen sich bekanntlich nicht einfach kristallisieren und sind somit schwerer zugänglich für die Strukturbestimmung mittels Röntgenkristallografie.

*Die Probenvorbereitung ist aber auch bei der Kryo-EM ein limitierender Faktor.*

**Stark** » Ja, das stimmt. Die meisten Probleme liegen in der Präparation, die oftmals gar nicht diskutiert wird. Wir befassen uns sehr intensiv mit der Aufreinigung der Proteine, das macht vor allem die Arbeitsgruppe meines Kollegen Ashwin Chari.

*Was machen Sie denn anders?*

**Stark** » Wir reinigen mit Dichtegradientenzentrifugation und Präzipitation und bekommen damit stabile, intakte Komplexe, die sowohl für EM taugen als auch kristallisieren. Auf der ganzen Welt werden für die Isolierung

der Moleküle chromatografische Methoden verwendet. Wir aber stellten über die Jahre hinweg fest, dass Chromatografie bei fragilen Komplexen enorme Schäden verursachen kann. Partiiell defekte Komplexe aber taugen weder für die EM, weil sie entweder auseinanderfallen oder aggregieren, noch für Kristallografie, weil sie nicht kristallisieren.

Welche Schäden Chromatografie verursachen kann, haben wir mit der Analyse einer Fettsäuresynthase erlebt und in diesem Jahr

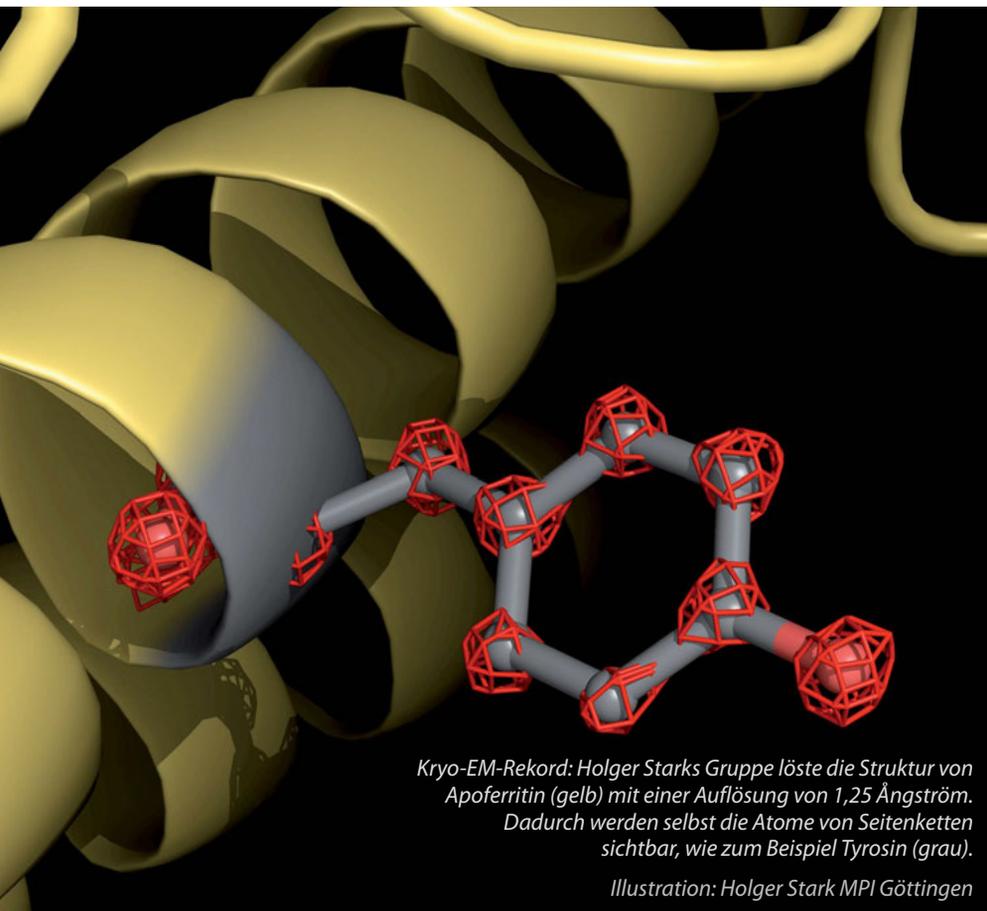
*» Die Kristallografie aufzugeben, wäre fatal. Ich bin vielleicht einer der wenigen, der das so sagt.«*

in *Cell* publiziert (180(6): 1130-1143.e20). Seit über 50 Jahren arbeitet man mit der Synthese, das ist einer der am besten studierten Komplexe überhaupt. Zu unserer wirklich großen Überraschung mussten wir feststellen, dass man fünf Dekaden lang eine nur locker gebundene Untereinheit gewaschen und deswegen konsequent übersehen hat. Diese Untereinheit hat aber sowohl einen stabilisierenden als auch einen regulatorischen Effekt. Aus der neuen Struktur haben wir jetzt ein besseres Verständnis dafür bekommen, wie das Molekül funktioniert.

*Wird die deutlich verbesserte Leistungsfähigkeit der Kryo-Elektronenmikroskopie die Kristallografie zur Nischenmethode in der Strukturbiologie machen?*

**Stark** » Ich hoffe nicht. Leider muss ich beobachten, dass viele Kristallografen ihr Feld verlassen und EM machen. Aber die Kristallografie ist nicht ersetzbar. Sie und EM sind komplementäre Techniken mit ihren Vor- und Nachteilen. Die Kristallografie ist immer hochauflösend und arbeitet im Hochdurchsatz. Wenn man also reproduzierbar Kristalle züchten kann, kann man mehrere Hundert solcher Kristalle täglich an einer Synchrotron-Beamline messen und die Strukturen lösen. Das geht mit Kryo-EM überhaupt nicht. Der Durchsatz ist etwa zwei Größenordnungen kleiner. Die Kristallografie aufzugeben, wäre fatal. Ich bin vielleicht einer der wenigen, der das so sagt. Es gibt viele Wissenschaftler mit starken Meinungen, die die Röntgenkristallografie schon vollständig abgeschlossen haben. Das geht mir einfach zu weit, das kann ich nicht unterstützen. Ich plädiere deshalb hier ganz entschieden nicht nur für die Verbesserung der Kryo-Mikroskope, sondern auch für den Erhalt der Synchrotrons, wenn man wirklich verstehen will, wie Proteine funktionieren und eventuell für therapeutische Zwecke inhibiert werden können.

*Das Interview führte Karin Hollricher*



*Kryo-EM-Rekord: Holger Starks Gruppe löste die Struktur von Apoferritin (gelb) mit einer Auflösung von 1,25 Ångström. Dadurch werden selbst die Atome von Seitenketten sichtbar, wie zum Beispiel Tyrosin (grau).*

*Illustration: Holger Stark MPI Göttingen*

BIOTECH-DIENSTLEISTER

## Starke Strukturen mit Zukunft



Foto: Ian Haydon, IPD

*Proteinstrukturanalysen sind aus der Wirkstoffentwicklung nicht mehr wegzudenken, denn sie erleichtern die Suche nach potenziellen Liganden. Hilfe bekommt die Pharmaindustrie hierbei von spezialisierten Biotech-Dienstleistern, die Membranproteinen und Co. mit Erfahrung und schwerem Gerät zu Leibe rücken.*

Tag für Tag sind Pharmafirmen und Wirkstoffentwickler auf der Suche nach dem Wirkstoff, nach dem Arzneimittel, das die Therapie entscheidend verbessert. Oft beschäftigen sie sich dabei mit *Small Molecules*, also einer bunten Mischung pharmakologisch wirksamer Stoffchen mit niedriger Molekülmasse. Die binden an Proteine und aktivieren oder inhibieren diese – je nach *Target*. Schon lange hat die Pharmaforschung dabei das Prinzip des „*Trial and Error*“ hinter sich gelassen. Entwickelt wird mit Köpfchen und KI. Deshalb spricht man auch von rationaler oder gezielter Wirkstoffentwicklung.

*Structure-based Drug Design* ist neuerdings der letzte Schrei bei der Entwicklung pharmazeutischer Wirkstoffe. Dafür benötigt der Forscher – Sie ahnen es! – eine dreidimensionale Struktur. Das ist in der Regel nicht die Struktur des kleinen Liganden, sondern des komplexeren Bindepartners – also des Proteins. Sind dessen Charakteristika wie Faltung, Multimerisierung und Bindetaschen bekannt, lassen sich mögliche Liganden in Datenbanken aufspüren und – theoretisch wie praktisch – einpassen.

Wie kommt nun der Pharmaforscher an die Struktur? Am Anfang steht eine DNA-Sequenz, die in ein Expressionssystem verfrachtet wird. Das sind auch heute oft noch bakterielle Zellen wie *E. coli*. Die produzieren meist bereitwillig Unmengen von Fremdmaterial. Allerdings sind die Proteine dann gegebenenfalls nicht korrekt gefaltet oder es fehlen posttranslationale Modifikationen (zum Beispiel Glykosylierungen, Methylierungen, ...), weil sich die pro- und eukaryotischen Systeme eben unterscheiden. Dann greifen Labore auf Insekten- oder humane Zellen wie HEK-Zellen zurück. Doch diese wiederum sind bisweilen launisch.

### „Wabbelige“ Moleküle

Liegt irgendwann dennoch ausreichend Protein vor, muss es noch aufgereinigt und für die Strukturanalyse vorbereitet werden. Wie genau der letzte Schritt aussieht, hängt von der Art der Analyse ab. Standardmethoden sind Kristallstrukturanalyse, NMR-Spektroskopie und Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM). Bei der Kristallstrukturanalyse werden

Proteine zunächst kristallisiert. Das ist nicht einfach, denn im Gegensatz etwa zu Salzen sind Proteine komplexe, „unregelmäßige“ und im schlimmsten Fall „wabbelige“ Moleküle, die sich nur ungern in gleichmäßige, kristalline Strukturen zwingen lassen. Ist dies irgendwann dennoch gelungen, wird dieser Proteinkristall mit meist Röntgenstrahlung beschossen. Je nach Beugungsmuster der Strahlung kann eine dreidimensionale Struktur des Moleküls errechnet werden.

Über das Verfahren der Kernspinresonanz (*Nuclear magnetic resonance*, NMR)-Spektroskopie können oft nur kleinere Proteine (kleiner als 50 kDa) gemessen werden, weswegen es in der kommerziellen Proteinstrukturanalyse kaum eine Rolle spielt. Denn gerade in der Wirkstoffforschung wird es erst ab über 100 kDa so richtig interessant – dazu später mehr.

Kryo-EM ist eine Methode, die in den vergangenen Jahren mehr und mehr an Bedeutung gewonnen hat, denn lästiges Kristallisieren der Proteine entfällt. Die Proben werden für die Analyse mit beispielsweise flüssigem Stickstoff schockgefroren und anschließend

mit Elektronen beschossen. Es ergeben sich Elektronendichtekarten, die in dreidimensionale Strukturen mit einer Auflösung von bis zu etwa 0,2 Nanometer (2 Å) umgerechnet werden können. Werden zum Beispiel Ionenkanäle mitsamt Ligand fixiert und eingefroren, lassen sich im optimalen Fall verschiedene Strukturzustände darstellen, die auf die dynamischen Eigenschaften eines Proteinkomplexes schließen lassen. Erst vor wenigen Wochen haben Forscher aus den USA und Großbritannien einen Algorithmus vorgestellt, der auf Grundlage von bereits bekannten Daten und Moleküleigenschaften die Auflösung von Kryo-EM-Bildern erneut deutlich verbessert (*Nat. Methods* 17: 923-27).

Nun kann sich aber nicht jedes Uni-Labor oder jede Biotech-Firma ein Mikroskop für die Kryo-EM leisten, oder – noch unwahrscheinlicher – eine Apparatur für eine Kristallstrukturanalyse. Denn diese Geräte sind nicht nur recht unhandlich, sondern vor allem sehr teuer. Ein Kryo-Elektronenmikroskop gibt es schon ab einer knappen Million Euro, Röntgenstrahlenquellen oder Alternativen wie Synchrotronstrahlungsquellen dürften um einiges höher liegen. Hinzu kommt, dass auch die Prozesse der Proteinaufreinigung und Probenvorbereitung für die anschließende Strukturanalyse Erfahrung und Expertise benötigen.

Deshalb greifen Firmen gern auf entsprechende Dienstleistungen Externer zurück. Und das lohnt sich für die Dienstleister, wie das Marktforschungsunternehmen *Grand View Research* im Jahr 2017 errechnete: Der globale Markt für Strukturbiochemie und molekulare Modellierungstechniken wurde bereits 2015 mit 2,52 Milliarden US-Dollar taxiert und wächst um knapp zwanzig Prozent jährlich. Die Kollegen von *Reports and Data* sehen im Jahr 2026 Umsatzwerte von etwa 15 Milliarden US-Dollar.

Da fällt sicherlich auch der eine oder andere Euro für Unternehmen in Deutschland und der Schweiz ab, die Proteinstrukturanalysen als Dienstleistung anbieten. Mit drei von ihnen hat *Laborjournal* im folgenden gesprochen: über ihre Geschäftsideen, die Tücken der Strukturanalyse und die Bedeutung für die Wirkstoffentwicklung.

## Eine Frage der Technologie

„Die wichtigsten *Targets* der Pharmaforschung sind Membranproteine“, erklärt Michael Hennig, CEO der Schweizer Firma leadXpro, gleich zu Anfang. Nach Biochemie- und Physikstudium in Berlin sowie Doktorarbeit am DESY (Deutsches Elektronen-Synchrotron) in Hamburg und Postdoc an der Uni Basel stieß Hennig 1995 zu Roche, wo er zunächst als Laborleiter und später als *Global Head of Discovery Technologies* arbeitete. 2015 gründete er mit

zwei Mitstreitern das Unternehmen leadXpro (Villigen, Schweiz), welches in der Entdeckung neuer Wirkstoffe tätig ist.

„Wir wollen Struktur-basiertes Wirkstoffdesign schwieriger *Targets* voranbringen, vor allem für GPCRs, also G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, aber auch für Ionenkanäle und Transporter“, sagt Hennig. „Dazu brauchen wir spezielle Technologien, die erst in den vergangenen Jahren für die Industrieforschung machbar geworden sind, um genau solche Proteinstrukturen zu generieren.“



Michael Hennig, leadXpro, will Struktur-basiertes Wirkstoffdesign schwieriger *Targets* voranbringen.  
Foto: leadXpro



Foto: Ian Haydon, IPD

Die Firma nutzt dafür sowohl Kryo-EM als auch Röntgenkristallographie. So lassen sich die Interaktionen von Liganden mit einem Protein genau analysieren. Hennig ist überzeugt: „Mit diesen Informationen können wir Moleküle mit verbesserten Eigenschaften erschaffen, um auf diese Weise eine bessere Wirksamkeit zu erzielen.“ Das heißt auch: weniger Nebenwirkungen, höhere Erfolgsaussichten in der klinischen Entwicklung – und damit: geringere Kosten. Mit diesen Argumenten lassen sich Pharmafirmen gern überzeugen, weiß Hennig. Und so gehören Wirkstoffentwickler weltweit zu den Kunden des Schweizer Unternehmens.

## Steckenpferd Membranproteine

leadXpro kooperiert mit dem Paul-Scherer-Institut (PSI; Villigen, Schweiz) und kann deshalb auf den Schweizer Freie-Elektronen-Röntgenlaser (SwissFEL) zugreifen. Dieser erzeugt Röntgenlichtpulse zwischen 1 und 60 Femtosekunden – und damit extrem kurze

und intensive Blitze in Laserqualität. Die Anlage ist 740 Meter lang und deshalb nichts fürs Standard-Labor.

Doch was ist der Vorteil eines solchen Apparates? Das PSI schreibt auf seiner Webseite: „Die Röntgenlichtpulse sind so lichtstark, dass sich mit ihnen Filme der Bewegung von Atomen und Molekülen erstellen lassen.“ Damit kann man zum Beispiel die Dynamik der Moleküle bei der Bindung an das *Target* bestimmen. „Das ist eine neue Qualität, denn vorher hat man eher statische Strukturen untersucht“,

sagt Hennig. „Diese Zusatzinformationen der Moleküldynamik ermöglichen Computerwissenschaftlern ganz neue Einsichten – und somit auch das Design besserer Medikamente.“

Membranproteine sind auch das Steckenpferd von Cube Biotech, einem 2012 gegründeten Biotech-Unternehmen aus Monheim am Rhein. Anfragen zu löslichen Proteinen bekommen sie auch, sagt Barbara Maertens, Co-Gründerin und -Geschäftsführerin, aber Membranproteine seien definitiv die schwierigeren und gefragteren *Targets*. Maertens studierte Biologie in Bonn, promovierte in Köln am Zentrum für Biochemie und kam nach einer kurzen Postdoc-Zwischenstation in Freiburg bei Qiagen unter. Dort traf sie unter anderem auf Jan Kubicek, der ebenfalls in Bonn Biologie studierte, am Forschungszentrum Jülich promovierte und anschließend etliche Jahre bei Qiagen arbeitete. Gemeinsam mit dem Chemiker Roland Fabis gründeten und leiten sie Cube Biotech.

„Membranproteine sind für die Wirkstoffentwicklung interessant, weil sie als Rezeptor-

ren die Tore zur Zelle sind, Kommunikationskaskaden aller Art auslösen und über Medikamente angesteuert werden können“, sagt Maertens. „Außerdem, und das ist ja gerade aktuell, sind sie Eintrittsstellen für Viren, so auch für SARS-CoV-2“, ergänzt Kubicek.

Wie kommt der Kunde nun aber an die Strukturinformationen? Der Ablauf ist im Großen und Ganzen bei allen Firmen gleich. Für ein bestimmtes – meist humanes – Protein erhält die Firma eine ID für eine Datenbank oder direkt die DNA-Sequenz. Mit dieser las-

sen sich die Proteine in Zellkultursystemen oder *in vitro* synthetisieren. Nach der Reinigung folgt die Probenvorbereitung, also entweder die Kristallisierung für eine Röntgenkristallographie oder das Aufbringen auf den Probenhalter (*Grid*) für die Elektronenmikroskopie. Gemessen wird dann extern.

Was sich so simpel anhört, hat es aber in sich: „Mit der Proteinpräparation steht und fällt der gesamte Prozess“, sagt Maertens. Praktisch, dass Cube Biotech das nötige Rüstzeug dafür direkt vor Ort hat. Denn neben den Dienstleistungen bietet das Monheimer Unternehmen zahlreiche Produkte rund um Proteinaufreinigung und -stabilisierung an. Letzteres ist besonders für Membranproteine wichtig, die sich herausgelöst aus ihrer Membran nie so richtig wohl fühlen, dann gern aggregieren oder einfach ihren Dienst einstellen. Neben Deter-

genzien – die jedoch zahlreiche folgende Bearbeitungsschritte stören können – bietet Cube Biotech deshalb kleine künstliche Membranscheibchen an, sogenannte Nanodiscs in unterschiedlichsten Ausführungen. Darin eingebettet fühlen sich auch Membranproteine wieder heimelig und lassen sich weiter bearbeiten.

## Reinigen und Stabilisieren

„Etwa 50 Prozent unserer Geschäftstätigkeit sind Produkte rund um Proteinreinigung und -stabilisierung“, sagt Maertens. Und es werde eher mehr als weniger, denn ein Produktverkauf ließe sich leichter skalieren als etwa Dienstleistungen.

Nicht nur die Qualität der Proteine ist wichtig, sondern auch die Quantität. Dabei gibt es große Unterschiede je nachdem, was genau mit den Proteinen geschehen soll. „Wenn man Protein kristallisiert, braucht man viel Protein in guter Qualität, optimalerweise mindestens 100 bis 200 Mikroliter mit zehn Milligramm pro

Milliliter“, sagt Kubicek. „Für die Kryo-EM benötigen Sie nur fünf Mikroliter, aber die müssen perfekt sein.“

Generell stehe die Kryo-EM bei der Strukturanalyse immer mehr im Fokus, weil sich mit ihr große Komplexe von 100 kDa und aufwärts abbilden ließen. Und Membranproteine sind groß, denn sie kommen oft multimer vor und stehen selten allein. „Wir reinigen Membranproteine mit 100 kDa bis zu 1 MDa auf“, sagt Kubicek. „Aber ein Nachteil ist, dass die Messungen bei der Kryo-EM mitunter Tage dauern“, entgegnet Maertens, „während ein Kristall in wenigen Sekunden gemessen werden kann.“ Hier hat also die Röntgenkristallographie wieder die Nase vorn.

Unter anderem mit Röntgenkristallographie von Proteinen verdient auch Proteros (Martinsried) sein Geld – und das bereits seit 1998. Von Beginn an ist der promovierte Chemiker und Mitgründer Torsten Neuefeind Geschäftsführer der Firma. Strukturbioogie-Erfahrungen sammelte er nicht nur in der Arbeitsgruppe von Nobelpreisträger Robert Huber am Max-Planck-Institut für Biochemie, sondern auch bei Bayer.

## Selbst ist der Proteinproduzent

„Wir waren eine der ersten Firmen, die 3D-Strukturen von Proteinen mittels Proteinkristallographie angeboten haben, nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip auch im Komplex mit einem Liganden“, erklärt Neuefeind. „Mittlerweile machen wir aber ebenfalls Kryo-Elektronenmikroskopie, die insbesondere für große Komplexe geeignet ist.“ Genauso wie für *Targets*, die sich einfach nicht gerne in kristalline Strukturen zwingen lassen – also etwa Membranproteine.

Neuefeind sieht die beiden Methoden deshalb als durchaus komplementär. Voraussetzung für beide seien aber Proteine von besserer Qualität, also rein und homogen. Deshalb kümmern sich die Unternehmer aus Martinsried direkt selbst um Proteinherstellung und -aufreinigung. Zur Analyse stehen Kryo-Elektronenmikroskope ebenso zur Verfügung wie Röntgenanlagen. Besonders für kleine Kristalle, die nicht stark streuen, können die Forscher aber auch auf eine Synchrotron-*Beamline* (SLS, *Swiss Light Source*) zurückgreifen, welche ebenfalls am PSI in der Schweiz steht.

Eine Besonderheit bei Proteros: Kunden können in einer Datenbank nachschauen, ob es ihr Wunschprotein vielleicht schon fertig etabliert gibt. *Gallery Structures* nennt Proteros dieses Katalogmodell mit bislang immerhin 341 Proteinen von 11-beta HSD (einem Corticosteroid-Dehydrogenase-Isoenzym) bis  $\mu$ -Calpain (einer katalytischen Untereinheit von Calpain-1). „Das sind etablier-

te Proteine und oft sogar fertige Kristalle von *Targets*, die zum Beispiel in der Pharmaindustrie weit verbreitet und dementsprechend gefragt sind“, sagt Neuefeind.

Für die Kunden ist das gut, denn so kommen sie erheblich schneller an die gewünschten Strukturinformationen. Außerdem ist das Risiko geringer, dass etwas bei der Expression, Reinigung oder Kristallisation nicht klappt. Und Proteros kann ein und dasselbe Wunschprotein mehrfach verkaufen.

## Zwischen Target und Off-Target

„Die Ligandeninformationen der Kunden bleiben natürlich vertraulich“, erklärt Neuefeind, und die Proteininformationen seien sowieso *Public Knowledge*. So haben beide Geschäftsparteien etwas davon. Kunden sind deshalb nicht nur große Pharmakonzerne, sondern auch kleinere Biotech-Firmen, die für ihre Entwicklungsarbeiten auf Strukturinformationen angewiesen seien.

Einen weiteren wichtigen Aspekt spricht Neuefeind an: „Wenn Pharmafirmen einen Liganden für ein bestimmtes *Target* suchen, dann wollen sie natürlich mithilfe der Strukturinformationen verstehen, wie und wo er bindet und wie sie ihn optimieren können. Das ist das primäre Ziel.“ Oft seien aber auch die sogenannten *Off-Targets* nicht weniger interessant, um die Selektivität von Wirkstoffen zu testen. „Viele Kinasen sind zum Beispiel strukturell sehr ähnlich, so dass Liganden womöglich an mehrere *Targets* binden.“ Auch dafür seien Strukturinformationen wichtig, so Neuefeind: „Wie optimiere ich die Bindung an mein Zielprotein, und wie optimiere ich die Nicht-Bindung an *Off-Targets*“, lauten deshalb manchmal Kundenanfragen.

Dass sie in den nächsten Jahren arbeitslos werden, fürchtet keiner der Firmenchefs. Die Marktvorhersagen geben ihnen recht. „Mittlerweile sind die Methoden Standard in der Industrie, und viele Firmen beziehen in ihre Entwicklungsprojekte Strukturanalysen mit ein“, sagt der Proteros-Geschäftsführer. Auch wenn sich inzwischen immer mehr Firmen den Strukturanalysen-Markt teilen, blickt Neuefeind dennoch mit Zuversicht in die Zukunft: „Der Trend geht zu immer anspruchsvolleren *Targets*, weil die Fragestellungen in der Wirkstoffentwicklung immer spezieller werden“, ist er überzeugt.

So findet jede Firma ihre Nische. Am Ende müssen aber auch maximal-optimierte Wirkstoffe in klinischen Studien auf Herz und Nieren geprüft werden. Erst dann zeigt sich, ob sich die Strukturanalysen und Berechnungen gelohnt haben – und ob wirklich *das* Medikament, das alles ändert, dabei ist.

Sigrd März



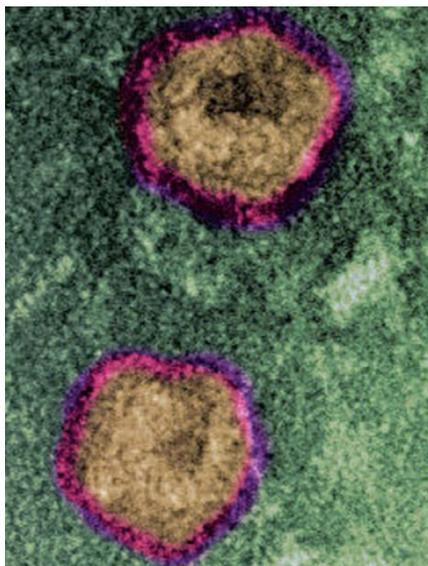
ContiVir, Magdeburg

## Saubere Sache

Das Magdeburger Start-up ContiVir hat einen Virus-ähnlichen Partikel (*virus-like particle*, VLP) als COVID-19-Impfstoffkandidaten hergestellt. Die verwendete Technologie ermöglicht es zudem, zügig große Mengen des anvisierten Impfstoffes aufzureinigen.

VLPs sind Partikel aus viralen Kapsiden, die weder Virus-DNA noch -RNA enthalten und deshalb nicht in potenziellen Zielzellen repliziert werden können. Somit eignen sie sich bestens für den Einsatz als Impfstoff. Ein weiterer Vorteil: Derart ihrer Replikationsfähigkeit beraubt können VLPs auch in Labors mit niedrigerer Sicherheitsstufe verarbeitet werden, was gerade bei hochinfektösen Erregern wie SARS-CoV-2 sehr hilfreich ist.

Konkret reinigt ContiVir „seine“ Viruspartikel mithilfe der Membran-basierten *Steric Exclusion Chromatography* (SEC) auf: Eine Suspension mit viralen Partikeln wird mit Polyethylenglykol (PEG) versetzt und anschlie-



„Zahnlose“ Virus-Partikel à la ContiVir.

Foto: ContiVir

ßend über eine flache Chromatographie-Säule mit einer hydrophilen, porösen Membran gegeben. PEG-VLP-Konglomerate bleiben an der Membran kleben, während Kulturmedium und DNA hindurchflutschen. Mit PEG-freiem Puffer werden die Partikel dann von der Membran gelöst und sind hernach sauber und aufkonzentriert für weitere Verarbeitungsschritte bereit. Das System ist skalierbar und praktischerweise auch auf viele weitere der momentan entwickelten Impfstoffkandidaten anwendbar. So könnten – sobald ein entsprechendes Vakzin gefunden ist – relativ schnell und unkompliziert viele Impfdosen hergestellt und aufgereinigt werden.

ContiVir ist ein Spin-off-Projekt des Max-Planck-Instituts für Dynamik komplexer technischer Systeme in Magdeburg. Im April erhielt die 2019 gegründete Firma 1,1 Millionen Euro EXIST-Förderung für die Produktion genterapeutischer viraler Vektoren. -SM-

Tubulis, München

## Verbindung mit Kniff

Bereits im Juli schloss das Münchner Start-up Tubulis eine Serie-A-Finanzierungsrunde über 10,7 Millionen Euro ab. Mit dem Geld möchte das junge Biotech-Unternehmen ihre maßgeschneiderten Antikörper-Wirkstoff-Konjugate weiterentwickeln.

Für *Antibody-Drug Conjugates* (ADCs) werden selektive Antikörper mit einem Wirkstoff kombiniert, um letzteren sicher und spezifisch ans Ziel – zum Beispiel einen Tumor – zu bringen. Schwierig ist mitunter die kovalente Kopplung des Wirkstoffs an definierte Stellen des Antikörpers, um eine optimale Wirkung zu gewährleisten.

Tubulis nutzt mit ihrer Tub-Tag-Plattform einen Kniff aus der Mikrotubuli-Biologie. Die Unternehmer fusionieren ein Peptid aus Alpha-Tubulin an einen Antikörper ihrer Wahl. Dieses Peptid ist ein bekanntes Substrat einer Tubulin-Tyrosin-Ligase, die nun das Peptid am Antikörper mit einem Tyrosin-Derivat versieht. Das unnatürliche Tyrosin kann dann als einzigartige und demnach spezifische Kopplungsstelle für den Wirkstoff genutzt werden. Gerade solche ADCs gelten als vielversprechende Kandidaten für die Onkotherapie.

Dieser Meinung waren offenbar auch die Investoren, unter anderem BioMedPartners, High-Tech Gründerfonds, Seventure Partners, Coparion, Bayern Kapital und Occident. Weiteres Kapital kam von Privatinvestoren und den Gründern.

Tubulis wurde 2019 als Spin-off aus dem Leibniz-Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMP) in Berlin und der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München ausgegründet. -SM-

Scienion, Dortmund/Berlin

## Passt präzise

Für 80 Millionen Euro hat die Dortmunder Firma Scienion den Besitzer gewechselt. Der Anbieter hochpräziser Dispersionssysteme wurde vom schwedischen Bioprinting-Unternehmen Cellink übernommen, bleibt aber weiterhin als eigenständige Firma bestehen.

Flüssigkeiten Pikoliter-genau dosieren, das ist Scienions Spezialgebiet. Ähnlich einem Tintendrucker können feinste Tröpfchen mit zum Beispiel DNA, Proteinen oder Einzelzellen auf Trägermaterialien aufgebracht oder aliquotiert werden. Das ist nicht nur für *Microarrays*, Biosensoren und diagnostische Tests praktisch, sondern auch für nachfolgende Applikationen wie etwa Einzelzellsequenzierung.

Für das erst 2016 gegründete Unternehmen Cellink kommt der profitable Dispensionspezialist gerade recht. Denn die Schweden wollen mit ihren Bio-Druckern 3D-Zellkulturen nicht nur punktgenau anordnen, sondern diese demnächst auch ebenso präzise mit Reagenzien und Wachstumsfaktoren versorgen. Das passt – und ist Cellink offenbar die vielen Millionen wert.



Tröpfchen für Tröpfchen perfekt dosiert...

Foto: Scienion

Scienion wurde 2000 unter anderem vom – alten und neuen – Geschäftsführer Holger Eickhoff als Spin-off des Max-Planck-Instituts für molekulare Genetik in Berlin gegründet und hat heute neben den Standorten Dortmund und Berlin auch Niederlassungen in den USA sowie über das Tochterunternehmen Cellenion in Lyon, Frankreich. -SM-

Atriva, Tübingen

## Nicht so stürmisch

Atriva Therapeutics erhält ein Darlehen in Höhe von insgesamt 24 Millionen Euro von der Europäischen Investitionsbank (EIB), nachdem die Tübinger bereits im August 8,6 Millionen Euro Kapital einstreichen konnten. Mit diesem Geldsegen wollen sie ihren Corona-Wirkstoff ATR-002 durch die klinische Phase 2 bringen.

ATR-002 wurde speziell zur Behandlung von Infektionen der Atemwege mit RNA-Viren entwickelt und soll außer gegen SARS-CoV-2 auch gegen das Influenza- und das Hantavirus helfen. In Influenzavirus-infizierten Zellen inhibiert ATR-002 die MAPK/ERK-Kinase (MEK) und damit den Export der viralen Genom-Pro-

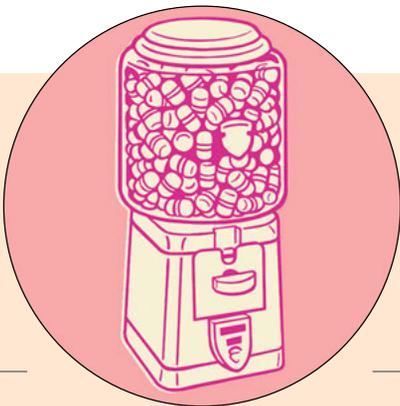
teinkomplexe vom Kern ins Cytoplasma. So verhindert der Wirkstoff die Bildung funktionaler Viruspartikel und reduziert die Viruslast im Körper. Außerdem moduliert ATR-002 das Immunsystem und minimiert die Gefahr eines Cytokinsturms, also einer unkontrolliert überschießenden Immunantwort. Diese tritt gelegentlich bei Patienten auf, die schwer an COVID-19 erkrankt sind, und führt zu lebensbedrohlichen Komplikationen.

Jetzt soll der MEP-Inhibitor des 2015 gegründeten biopharmazeutischen Unternehmens in einer randomisierten, doppelt verblindeten Phase-2-Studie an Patienten mit mittel-

schwer bis schwer verlaufender COVID-19-Erkrankung getestet werden. Allerdings muss das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) noch zustimmen.

Das EIB-Darlehen ist Teil der Initiative InnovFin, in deren Rahmen Projekte zur Erforschung von Infektionskrankheiten gefördert werden. Es wird in drei Häppchen ausgezahlt, sobald vereinbarte Meilensteine erreicht wurden. An der aktuellen Investitionsrunde beteiligten sich neben den bereits bestehenden Investoren Meneldor B.V. und High-Tech Gründerfonds auch weitere deutsche und internationale Geldgeber.

-SM-



### Wirkstoffe des Monats

## REGN und LY-CoV: Monoklonale Antikörper gegen SARS-CoV-2

Während man über die Behandlung einer SARS-CoV-2-Infektion mit antiviralen oder antientzündlichen Medikamenten wie Remdesivir und Dexamethason (LJ 10/2020) in den Medien viel lesen konnte, lief die Entwicklung von therapeutischen monoklonalen Antikörpern unter dem Radar. Erst mit der Behandlung von Donald Trump rückte diese Option ins Rampenlicht.

Etliche Arbeitsgruppen berichteten via Paper oder Preprint über die Entwicklung monoklonaler Antikörper, die die Infektion mit dem Virus unterdrücken. Aber nur zwei US-Firmen, nämlich Eli Lilly und Regeneron, beantragten nach eigenen Angaben bei der FDA bereits eine Notfallzulassung solcher Moleküle zur Therapie von COVID-19-Patienten. Können diese Antikörper eine Infektion wirklich ausheilen, wie Trump behauptet?

Regeneron isolierte Antikörper sowohl aus genetisch humanisierten und immunisierten Mäusen wie auch aus genesenen Patienten (Science 369: 1010-4 und 1014-8). Aus über 200 Kandidaten fischten die Forscher vier Moleküle heraus, die in nicht-kompetitiver Art und Weise an das virale Spike-Protein binden, was die Erkennung des Virus durch den menschlichen ACE2-Rezeptor und somit die Infektion verhindert.

Bei Tests an Pseudoviren zeigte sich, dass das Virus gegen Monoklonal-Behandlungen Resistenzen entwickeln kann, nicht aber gegen Kombinationstherapien. Nach Angabe der Firma (Pressemitteilung vom 29. Sept. 2020) testete sie in einer Studie einen Mix aus zwei monoklonalen Antikörpern (REGN-COV2) an 275 infizierten, aber nicht hospitalisierten Probanden. Mit höherer Dosis behandelte Patienten wurden dabei schneller gesund als Probanden der anderen Gruppen.

Allerdings profitierten von der Behandlung am stärksten diejenigen Personen, die selbst keine eigenen Antikörper produzierten

und die höhere Dosis erhalten hatten. Dass die eigene Immunantwort hilft, die Infektion im Zaum zu halten, zeigte sich demnach auch in dieser Studie. Zumal überdies seropositive Probanden der Placebogruppe schneller gesund wurden als Patienten ohne eigene Antikörper.

Regeneron plant nun eine weitere Untersuchung mit 1.300 infizierten Personen, die nicht so schwer krank sind, dass sie im Krankenhaus behandelt werden müssen. Donald Trump dürfte bei dieser Phase-2/3-Studie allerdings kein Datenpunkt werden – er war schließlich im Krankenhaus.

Zwei andere einlizenzierte monoklonale Antikörper testete Eli Lilly. Die ursprünglichen Versionen dieser Moleküle wurden aus dem Plasma genesener Patienten isoliert. Das Molekül LY-CoV555 war von der kanadischen Firma AbCellera sowie Forschern verschiedener US-Institute entwickelt worden (bioRxiv, doi: 10.1101/2020.09.30.318972). Das Molekül LY-CoV016 (ehem. CB6) entwickelten Forscher vom Institut für Mikrobiologie der Chinesischen Akademie der Wissenschaften in Kooperation mit der chinesischen Firma Junshi Biosciences (Nature 584: 120).

Auch diese Moleküle binden an verschiedene Antigene des Spike-Proteins und wurden sowohl singular wie auch in Kombination getestet. Nach Angaben von Eli Lilly (Pressemitteilung vom 7. Oktober 2020) waren die Antikörper im Rahmen der Placebo-kontrollierten, verblindeten Studie BLAZE-1 mit 268 nicht-hospitalisierten Infizierten sowohl einzeln wie auch in Kombination wirksam: Sie ließen die COVID-19-Symptome eher verschwinden, und die Viruslast ging schneller zurück als mit Placebo.

Bisher wurde allerdings keine dieser Studien publiziert, die Bekanntgabe der detaillierten Ergebnisse steht also noch aus.

Karin Hollricher

## FIRMENPORTRÄT REFINED LASER SYSTEMS, MÜNSTER

# Glasfaserknäuel gegen die Langsamkeit

*Moleküle identifizieren ohne vorherige Markierung? Das geht zum Beispiel mit der Raman-Spektroskopie. Das Münsteraner Start-up Refined Laser Systems setzt dabei Glasfasertechnik ein, um die komplexen Systeme kompakter und vor allem deutlich schneller zu machen.*

Forscher verwenden die Raman-Spektroskopie gerne zur Untersuchung von Materialeigenschaften – egal, ob dieses Material ein Halbleiter, Gemüsesuppe oder eine biologische Zelle ist. Wichtig ist nur, dass es Moleküle gibt, die mit dem Licht wechselwirken.

Konkret: Eine Probe wird mit Licht einer definierten Wellenlänge bestrahlt. Dazu nehmen Raman-Spektroskopiker in der Regel monochromatische Laser. An den Molekülen der Probe wird das Licht gestreut – und zwar inelastisch, wie der Physiker sagt. Das bedeutet, dass ein Teil der kinetischen Energie des Lichts zum Beispiel in Anregungsenergie umgewandelt wird – etwa in Molekülschwingungen. Durch diesen Energieverlust hat das gestreute Licht eine geringere Frequenz – also Wellenlänge – als der ursprüngliche Laserstrahl. Das nennt sich Stokes-Raman-Streuung und lässt sich messen. Denn das Spektrum an Molekülschwingungen und Frequenzänderungen (Raman-Frequenzverschiebung) ist für ein streuendes Atom oder Molekül charakteristisch.

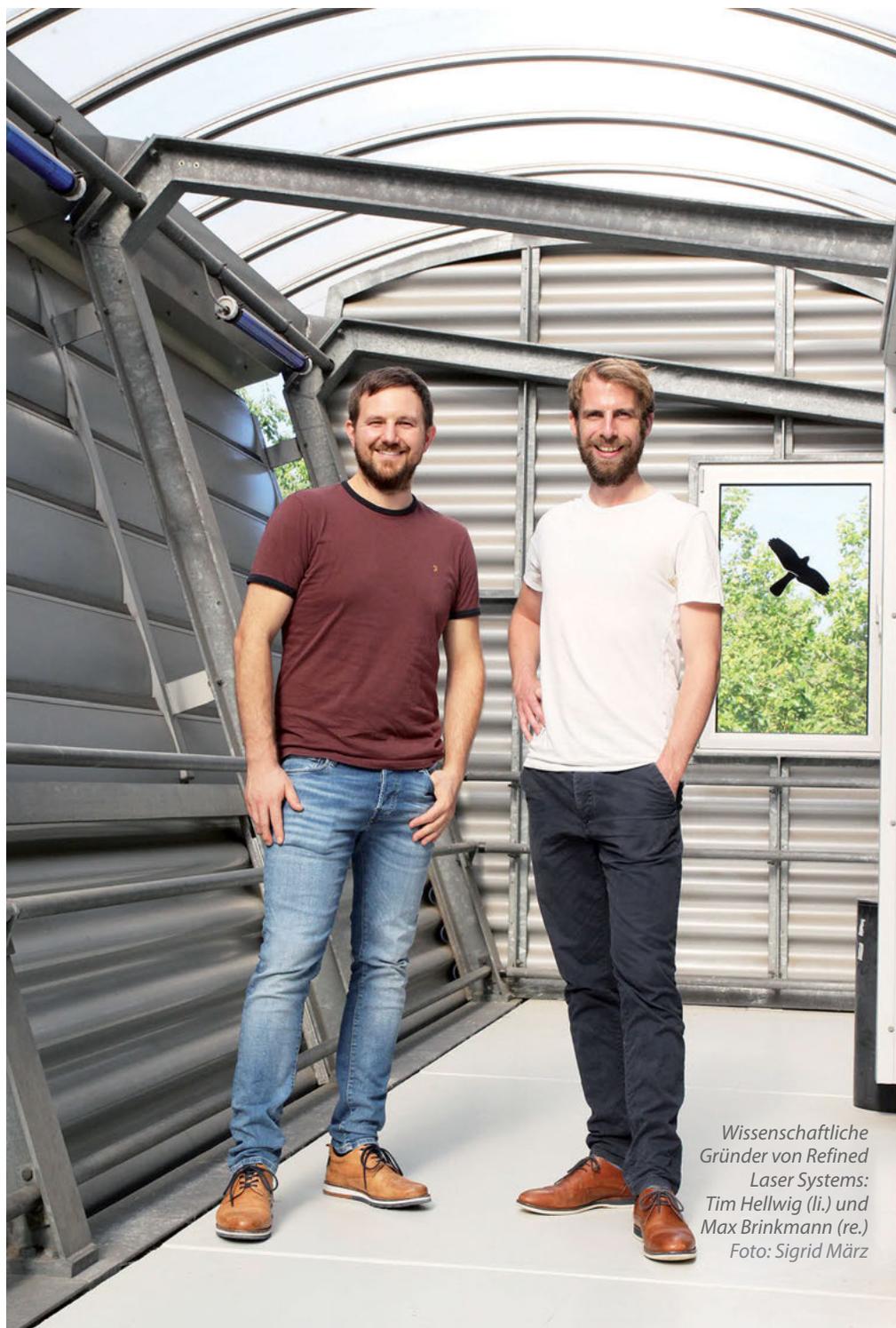
Ebenso kann aber auch das streuende Molekül bei der Kollision mit einem Photon Energie auf dieses übertragen. Dann zeigt das gestreute Licht eine höhere Energie und demzufolge auch eine höhere Frequenz als vorher. Dieser Effekt heißt – wenig kreativ – Anti-Stokes-Raman-Streuung.

## Keine Farbe stört

*Take-Home-Message* nach so viel physikalischer Theorie? Wenn ich mit Licht definierter Energie auf ein Material schieße, sagt mir die Raman-Frequenzverschiebung im Nachgang, um welches Material es sich handelt. Der Clou: Raman-spektroskopische Ansätze funktionieren nicht-invasiv, da nichts markiert oder manipuliert werden muss. Das ist ein enormer Vorteil gegenüber der klassischen Fluorophor-basierten Mikroskopie und schreit förmlich nach Anwendungen in der *Point-of-Care*-Krebsdiagnostik oder markierungsfreien Histopathologie. Denn Färbungen kosten nicht nur Zeit, sie beeinflussen mitunter das biologische System. Beispielsweise sind Fluoreszenzmarker oft größer als ein zu untersuchender Wirkstoff, was in Bindestudien stört. Weshalb etwa auch die Pharmaforschung an markierungsfreien Methoden interessiert ist.

Die Mitarbeiter von Refined Laser Systems wenden nun einen Spezialfall der Raman-Spektroskopie an, und zwar die kohärente Anti-Stokes-Raman-Streuung (*Coherent Anti-Stokes Raman Scattering*, CARS). Dieser Ansatz ist besonders für *In-vivo*-Messungen und diagnostische Bildgebung geeignet.

„Im Gegensatz zur klassischen Raman-Spektroskopie ist CARS nicht-linear“, sagt Maximilian Brinkmann, Physiker und einer der beiden Geschäftsführer von Refined Laser Systems. Was das genau bedeutet, erklärt er so: „Wir beleuchten die Probe mit zwei Laserstrahlen unterschiedlicher Frequenz und regen so



Wissenschaftliche  
Gründer von Refined  
Laser Systems:  
Tim Hellwig (li.) und  
Max Brinkmann (re.)  
Foto: Sigrid März

Molekülschwingungen kohärent an. Der Energieabstand der beiden Laser entspricht dabei genau der Schwingung des Moleküls, das wir anregen wollen, und der Übergang wird erleichtert.“

Tim Hellwig, Geschäftsführer Nummer zwei und ebenfalls Physiker, ergänzt: „Die Standard-Raman-Streuung ist ein ineffizienter Prozess. Es kann Stunden bis Tage dauern, um ein einziges Bild von gerade einmal 100 x 100 µm aufzunehmen.“ Wie bei der konfokalen Mikroskopie entsteht auch das Raman-Streuungsbild Punkt für Punkt. Teilweise müsse, sagt Hellwig, eine Sekunde pro Pixel integriert werden. Bei einer Million Pixel kommen da schon einige Sekunden zusammen. „Ziel war es also, diese Art der Mikroskopie effizienter und schneller zu machen.“

CARS allein ist allerdings kein Allheilmittel, denn bislang wurde diese Methode hauptsächlich in spezialisierten Laboren angewandt. Die Laserstrahlung wird in komplexen Systemen erzeugt, in denen freistehende Spiegel, Mechaniken und weitere Optiken aufeinander stabilisiert werden müssen. Dadurch ist der Aufbau nicht nur gigantisch groß, sondern auch sehr anfällig gegenüber äußeren Einflüssen wie Staub oder Erschütterungen. Klingt also gar nicht nach *Point-of-Care*.

Und da kommen nun die Jungunternehmer von Refined Laser Systems ins Spiel. Denn während ihrer Doktoranden- und Postdoc-Zeit im Labor von Carsten Fallnich am Institut für Angewandte Physik der Uni Münster tüftelten Brinkmann und Hellwig an Glasfasersystemen, die es für Mikroskopie-Anwendungen zu optimieren galt.

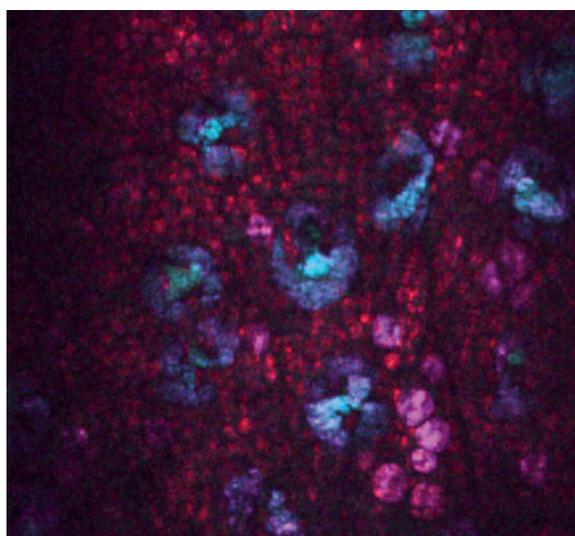
Heraus kam ein glasfaserbasiertes Ultrakurz-Impulslasersystem für die CARS-Mikroskopie. „Statt in einer Sekunde pro Pixel integriert unser Lasersystem in zehn Mikrosekunden“, sagt Hellwig. Wie das? „Dieser Prozess läuft nicht mehr spontan ab“, erklärt der Forscher. „Ich schieße also nicht mehr mit meinem Laser auf die Probe und schaue, welche Photonen zufällig an dessen Vibrationsniveau gestreut werden. Sondern ich biete dem Molekül ein paar Photonen an, die genau den passenden Energieabstand für diese Vibrationen haben.“

## Glasfasern statt Spiegel

Das geht erheblich schneller und effizienter. Sucht der Experimentator beispielsweise nach bekannten Krebsmarkern in menschlicher Haut, kann das Lasersystem in Millisekunden auf die charakteristischen Schwingungen angepasst und die Marker detektiert werden.

Hellwig fasst das so zusammen: „Wir können von komplexen biologischen Proben Videos in Echtzeit mit einer Rate von 10 Hertz aufnehmen. Nach jedem Bild ändert sich die Laserfarbe und wir schauen uns eine andere Molekülschwingung an. Das war bisher mit anderen Lasern nicht möglich.“

Kernstück ist das patentierte Lasersystem. Statt Spiegel leiten Glasfasern das Licht. Dadurch konnten so gut wie alle mechanischen Elemente aus dem System verbannt werden, wie etwa Motoren, welche die Spiegel auf Schlitten bewegen und ausrichten. „Mit unserem elektronisch schaltbaren Aufbau sind wir nicht mehr durch mechanische Trägheit limitiert“, sagt Hellwig.



So sieht's aus, wenn Refined Laser Systems mit seiner Technik nach fettreichen Talgdrüsen (blau) in Mausehr-Gewebe sucht.  
Foto: Max Brinkmann

Ein weiterer Vorteil der Glasfasertechnik wird bei einem Blick auf das Lasersystem klar: Schuhkarton statt raumfüllendes Gerät. „Wir können die Fasern dicht wickeln, dadurch ist das System kompakt“, sagt Brinkmann. „Außerdem ist das Licht in den Fasern gegen Störungen von außen geschützt. Unser Laser benötigt also keinen luftgefederten Tisch oder dergleichen, um gut zu funktionieren.“ Der kompakte Aufbau soll auf Dauer auch mobile Anwendungen ermöglichen, ob in Kliniken oder etwa für Umweltanalysen „im Feld“.

Viele Systeme sind bisher nur von Experten bedienbar. Doch das soll sich ändern. Refined Laser Systems möchte den Laser aus der Spezialisten-Ecke herausholen und zu einem anwenderfreundlichen Werkzeug machen. Die Jungunternehmer sehen enormes Wachstumspotenzial, denn die Standard-Raman-Spektroskopie sei, was Schnelligkeit und Lichtintensität angehe, bereits am Limit.

Unterstützung bei der Produkt- bzw. Technologieoptimierung erhalten die Münstera-

ner unter anderem von Kooperationspartnern wie zum Beispiel Conor Evans von der *Harvard Medical School* in Boston. „Er hat sein mobiles Mikroskop um unser Lasersystem im Prototypenstadium herumgebaut und wird demnächst erste Messungen an Probanden und Krebspatienten vornehmen“, sagt Hellwig. Damit ist Evans auch einer der ersten Kunden von Refined Laser Systems, denn den Laser hat er dem Start-up abgekauft.

## Alles unter Kontrolle

Wenn es nach Brinkmann und Hellwig geht, sind Entwicklung und Verkauf der Lasersysteme das Geschäftsmodell der nächsten Zukunft. Deshalb hätten sie sich bisher nicht um Fremdkapital bemüht. Denn damit kämen, so Hellwig, auch immer Fremdkontrolle sowie der Wunsch der Investoren nach greifbaren Anwendungen hinzu. Die beiden Unternehmer sehen ihre Laser zunächst in der biomedizinischen Grundlagenforschung und erst in einem weiteren Schritt bei Firmen, die diese Technologie beispielsweise in ihre Mikroskope implementieren wollen. Geld für die Firma kommt daher – neben den Verkäufen – von Wandeldarlehen der NRW-Bank.

Generell sind die beiden Geschäftsführer sehr zufrieden mit dem Verlauf der letzten Jahre. Mit Forschungstransfer-Förderung von Land und Bund startete das Projekt „Firmengründung“ bereits 2017, damals noch im Uni-Labor. Seit Ende 2019 ist die Firma als GmbH angemeldet und hat sich seitdem von den drei Gründern Brinkmann, Hellwig sowie Wirtschaftschemiker Christoph Seidenstücker auf nunmehr vier Köpfe vergrößert: Vor kurzem stieß Sven Dobner zum Team, der nach jahrelanger Tätigkeit in der Laserindustrie Entwicklungs- und Produktionserfahrung mit ins Unternehmen bringt.

Brinkmann resümiert: „Das unterscheidet uns vom klassischen Start-up, dass wir nicht direkt *Venture Capital* aufnehmen und exorbitantes Wachstum anstreben. Wir möchten vielmehr nachhaltig wachsen, organisch. Wir sind an etwas Langfristigem interessiert. Das ist unser Weg.“

Sigrid März

Was die beiden Gründer Tim Hellwig und Max Brinkmann über das Gründen denken und wohin ihre unternehmerische Reise weitergehen soll, erzählen sie parallel auf [laborjournal.de](http://laborjournal.de).



## PRODUKTÜBERSICHT: FLUORESZENZFARBSTOFFE

# Neue Farbpalette

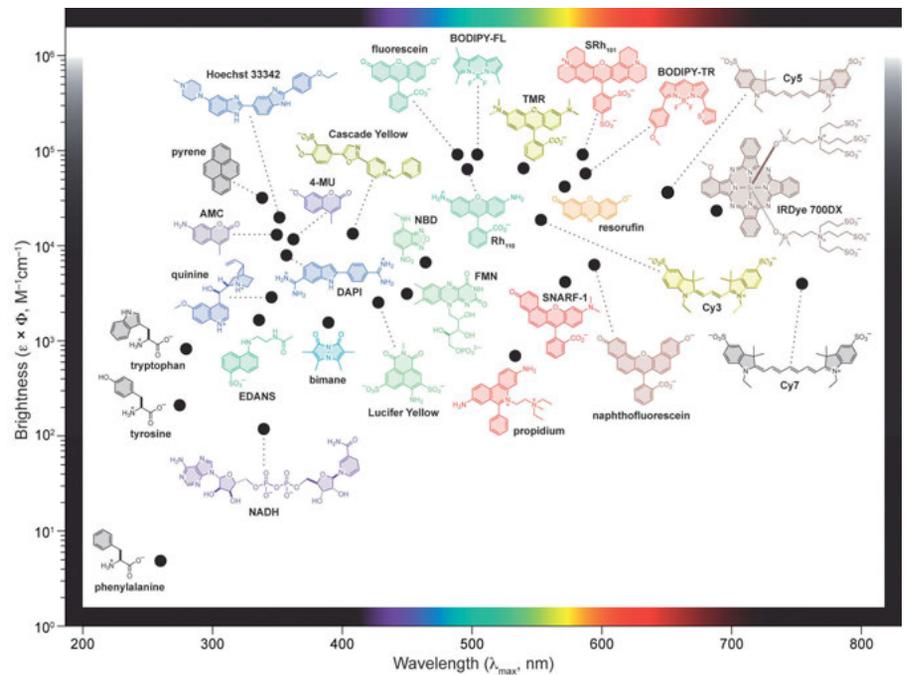
Fluoreszenzfarbstoffe sind die heimlichen Stars in biowissenschaftlichen Laboren. In unzähligen Assays und Labortechniken sorgen sie dafür, dass den Experimentatoren im wahrsten Sinne des Wortes ein Licht aufgeht.

Ohne Fluoreszenzfarbstoffe gäbe es weder Fluoreszenz-Mikroskopie sowie Fluoreszenz-aktivierte Durchflusszytometrie (FACS) noch höchstauflösende Mikroskopie wie STED oder dSTORM – auch bei den meisten Zellsays und Detektions-Verfahren bliebe es ohne sie zappenduster. Kurzum, ohne Fluoreszenzfarbstoffe wäre die moderne biomedizinische Forschung ziemlich aufgeschmissen und schlicht nicht vorstellbar.

Ihren ersten Auftritt in den Laboren hatten fluoreszierende Farbstoffe in den Siebzigerjahren als sie insbesondere den damals neuentwickelten FACS-Geräten zum Durchbruch verhalfen. Die Auswahl war aber noch recht bescheiden: Sie bestand im Wesentlichen aus dem grün fluoreszierenden Fluorescein und dem rot fluoreszierenden Rhodamin. Die molekularen Strukturen dieser beiden Farbstoffe sind sehr ähnlich und erfüllen einige wichtige Grundprinzipien, die für sämtliche klassische Fluoreszenzfarbstoffe gelten: Die Basisstruktur ist ein ebenes durchkonjugiertes Doppelbindungs-System (delokalisiertes Pi-Elektronen-System) ohne funktionelle Gruppen, die strahlungslose Übergänge zwischen angeregtem und Grundzustand begünstigen würden. Stattdessen ergänzt man die Grundstruktur mit Substituenten, die anregbare, nichtbindende Elektronen enthalten, um die Fluoreszenzeigenschaften zu modifizieren.

## Ebenes Grundgerüst

So besteht zum Beispiel Rhodamin aus einem planaren Xanthen-Grundgerüst, das aus drei nebeneinanderliegenden Benzolringen aufgebaut ist, wobei im mittleren Ring ein Kohlenstoffatom durch ein Sauerstoffatom ersetzt ist. Als zusätzliche Substituenten sitzen am



Etwa 30 fluoreszierende Moleküle bilden die Basis für unzählige Fluoreszenzfarbstoffe, die für das Imaging von Zellen eingesetzt werden.

Illustration: Luke Lavis

linken und rechten Ring je eine Aminogruppe und zusätzlich am mittleren Ring ein Benzoesäurerest.

Diese relativ einfache Grundstruktur, die der Chemiker Maurice Ceresole von BASF in Ludwigshafen bereits 1887 herstellte, genügte den Ansprüchen der Biowissenschaftler aber bald nicht mehr. Sie wollten Rhodamin-Farbstoffe, die eine größere Bandbreite bei den Absorptions- und Emissionsmaxima abdeckten als zum Beispiel das gängige Tetramethylrhodamin (TMR). Um die Banden zu verschieben, modifizierten Farbstoff-Chemiker die Substituenten und schufen hierdurch eine Vielzahl von Rhodamin-Varianten, die vom gängigen Texas-Red für das Labeling von Proteinen oder Antikörpern bis zu den aktuellen Janelia-Fluor(JF)-Farbstoffen reichen, die für Zell-Imaging und Nanoskopie geeignet sind.

Hinter den Janelia-Farbstoffen steckt mit Luke Lavis vom Janelia Research Campus in Ashburn, USA, einer der kreativsten Farbstoff-Chemiker der Szene, der insbeson-

dere Farbstoffe für die höchstauflösende Mikroskopie optimiert.

## Strahlend hell durch Vierring

Seine jüngste Schöpfung sind Rhodamin-Derivate, bei denen sein Team die Aminogruppen durch einen Vierring mit einem Stickstoffatom (Azetidin) ersetzte (*Nat. Methods* 14: 987-94). Mit zusätzlichen Resten an den beiden Azetidin-Ringen, die Elektronen unterschiedlich stark anziehen, etwa elektropositive Fluor-Atome im Gegensatz zu elektropositiven Methyl-Gruppen, feintunte Lavis Gruppe die Anregungsmaxima der synthetisierten Janelia-Farbstoffe. Zu guter Letzt versah sie Lavis Mannschaft mit einem Halo- oder SNAP-Tag, mit denen sie sehr einfach als Fluoreszenz-Label an ausgesuchte Zielproteine angeheftet werden können.

Um Abnehmer für seine Farbstoffe muss sich Lavis keine Sorgen machen. Auf dem Janelia Research Campus werkelt unter anderem

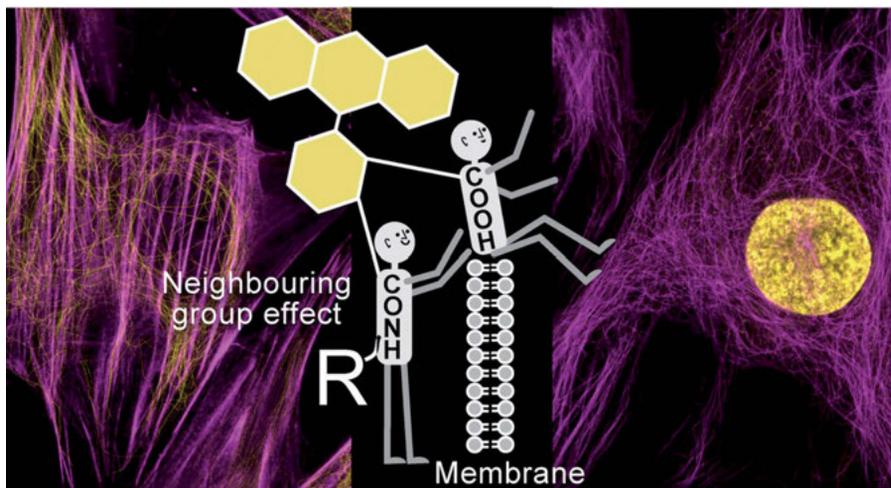
Nobelpreisträger Eric Betzig an ausgefeilten Nanoskopie-Techniken und nutzt dazu die Janelia-Palette. Auch andere internationale *Imaging*-Gruppen, etwa die von Markus Sauer an der Universität Würzburg, arbeiten mit Lavis zusammen und experimentieren mit seinen Farbstoff-Kreationen.

Was man aus dem bald 150 Jahre alten Rhodamin immer noch herauskitzeln kann, zeigt auch Gražvydas Lukinavičius Gruppe am Max Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen. Mit einigen Tricks synthetisierte sie ein 4'-Carboxyamid-Rhodamin, das direkt neben der Carboxyl-Gruppe der Benzoesäure einen zusätzlichen Amid-Rest beherbergt, der Erstaunliches bewirkt: Er erhöht die Zellpermeabilität um ein Vielfaches gegenüber klassischen Rhodamin-Derivaten und stabilisiert die fluoreszierende Form des Farbstoff-Moleküls, wodurch sich dessen Fluoreszenz verstärkt (*Chem. Sci.* 11: 7313).

Die Göttinger verknüpften den neukreierten Farbstoff mit Liganden, die an Tubulin, Actin oder DNA binden, und nutzten diese Proben unter anderem für das Lebendzell-*Imaging* mithilfe der STED-Mikroskopie.

## Immer wieder Rhodamin

Seit einigen Jahren macht der Farbstoff SiR-Hoechst (SiR-DNA) Furore, mit dem man zum Beispiel den Zellkern für *Imaging*-Experimente mit fernem Rotlicht anfärben kann. Auch SiR-Hoechst ist ein Rhodamin-Farbstoff. Allerdings wurde das Sauerstoff-Atom im Xanthen-Gerüst durch ein Silicium-Atom (Si) ersetzt und gleichzeitig der DNA-bindende Farbstoff Hoechst über eine Carboxyl-Gruppe an Position 6 des Benzolrings angehängt.



Der Nachbargruppen-Effekt sorgt bei 4'-Carboxyamid-Rhodamin dafür, dass der modifizierte Farbstoff die Zellmembran viel leichter passieren kann als das ursprüngliche Rhodamin.

Illustration: Gražvydas Lukinavičius/Hartmut Sebesse

SiR-Hoechst ist aber nicht besonders hell und wird durch Zellpumpen der *Multidrug-Resistenz* schnell aus der Zelle herausgeschleust. Lukinavičius Gruppe fand jedoch einen Trick, mit dem man diese Schwachpunkte beseitigen kann: Sie knüpfte den Hoechst-Farbstoff an eine 5'-Carboxyl-Gruppe statt an eine 6'-Carboxyl-Gruppe von Rhodamin. Bei STED-Experimenten, die Lukinavičius Mitarbeiter zusammen mit Stefan Hell durchführten, leuchteten die mit 5'-Carboxy-Rhodamin gefärbten Zellkerne wesentlich heller als mit den üblichen 6'-Carboxy-Rhodamin-Hoechst-Farbstoffen (*Chem. Sci.* 10: 1962).

Viele der populären Alexa-Farbstoffe basieren ebenfalls auf Rhodamin-Derivaten. Sie enthalten jedoch zusätzliche Sulfonsäure-Reste, wodurch sie eine negative Ladung

annehmen und sich besser in Wasser lösen. Alexa-Farbstoffe bilden hierdurch seltener Aggregate und sind photostabiler als die Ausgangsmoleküle. Die Stabilisierung durch die Sulfonyl-Gruppe funktioniert aber nicht nur mit Rhodaminen, sondern auch mit anderen gängigen Fluoreszenzfarbstoffen, etwa Coumarinen oder Cyaninen.

Noch ziemlich neu auf der Farbstoffpalette sind BODIPY-Fluorophore. Der etwas merkwürdige Name geht auf ihre Grundstruktur aus zwei Pyrrol-Ringen zurück, die über eine Methin-Brücke miteinander verknüpft sind – ganz ähnlich wie die Pyrrole im Porphyrin-Ring von Häm. Im Unterschied zu Häm fehlen aber die zwei weiteren Pyrrole, um den Ring zu schließen. Zudem sind die beiden Pyrrol-Stickstoffatome nicht mit einem

**Promega**

Protein Purification from Mammalian Cells

Cellular Imaging

Immunocytochemistry

Protein:Protein Interactions

Protein:DNA Interactions

Super Resolution Microscopy

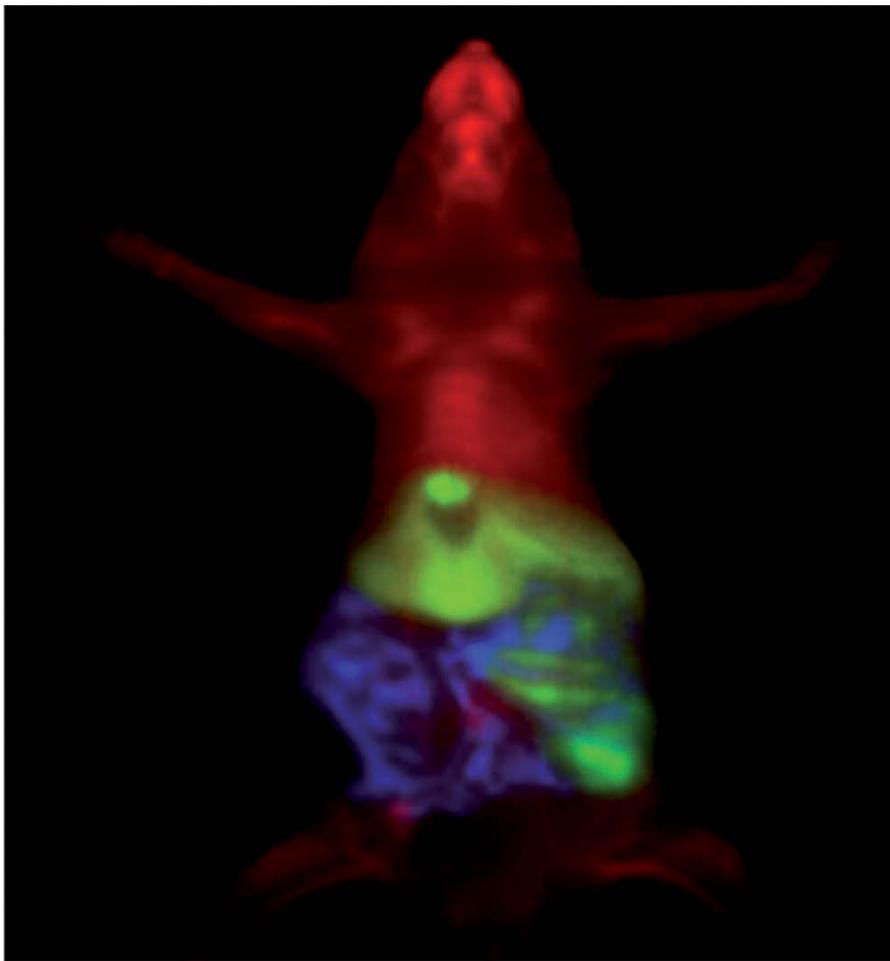
Protein Purification from *E. coli*

Start with a **HALOTAG® FUSION PROTEIN** and you open a gateway for **PROTEIN ANALYSIS**

Your Protein

HaloTag® Protein

[www.promega.com/HaloTagTechnology](http://www.promega.com/HaloTagTechnology)



Oliver Bruns Team vom Helmholtz-Zentrum München synthetisierte Flavylumheptamethin-Farbstoffe für bildgebende Verfahren mit kurzwelligem Infrarotlicht. Bei der abgebildeten Maus sind die Organe mit verschiedenen Flavylum-Farbstoffen gefärbt: Gefäße rot, Bauchraum blau, Leber und Darm grün.

Foto: Helmholtz-Zentrum München

Eisen-Atom koordiniert, sondern einem difluorierten Bor. Das Molekülgerüst wird deshalb als Bordipyrrrol bezeichnet oder kurz BODIPY. Wie bei anderen Farbstoffen lassen sich wichtige Eigenschaften wie Löslichkeit oder Anregungswellenlänge mit zusätzlichen Substituenten an den Pyrrol-Ringen gezielt steuern. Wählt man diese geschickt aus, erhält man BODIPY-Derivate, die fast alles haben, was sich Biowissenschaftler von Fluoreszenzfarbstoffen wünschen: hohe Quantenausbeuten und Extinktionskoeffizienten, scharfe Emissionsbanden, eine ausreichende Photostabilität, fast kein Auslöschung (*Quenchen*) durch Luftsauerstoff sowie eine vom pH-Wert unabhängige Intensität der Fluoreszenz.

BODIPYs decken zusammen mit den anderen gängigen Fluoreszenzfarbstoffen das sichtbare Spektrum des Lichts sowie die angrenzenden ultravioletten und nah-infraroten Wellenlängen ab. Sie sind deshalb für das Fluoreszenz-*Imaging* in Zellen oder sehr kleinen Modellorganismen wie Zebrafischen geeignet. In größeren Organismen, etwa Mäusen, dringt sichtbares Licht aber nicht mehr tief genug in das Gewebe ein. Zudem nimmt die

Autofluoreszenz im Inneren der Organismen sehr stark zu und verhindert eine scharfe Auflösung der Bilder. In größeren Modellorganismen oder Organen arbeiten Forscher deshalb meist mit kurzwelligem Infrarotlicht (SWIR), dessen Wellenlänge von 1.000 bis 2.000 Nanometern weit jenseits der Anregungsmaxima üblicher Fluoreszenzfarbstoffe liegt. Der Biochemiker Oliver Bruns vom Helmholtz Zentrum München entwickelte deshalb zusammen mit Kollegen von der *University of California*, Los Angeles, eine Serie sogenannter Flavylumheptamethin-Farbstoffe für das SWIR-*Imaging* (*Nat. Chem.*, doi:10.1038/s41557-020-00554-5).

### Rotverschiebung durch lange Kette

Bruns Gruppe nutzte für diese das Grundgerüst der in den Biowissenschaften sehr häufig eingesetzten Cyanin(Cy)-Farbstoffe. Dieses besteht aus zwei (quartären) aromatischen Heterozyklen, zum Beispiel Pyridinen, die über eine Polymethin-Kette verbunden sind. Je länger die Kette ist, desto stärker ist die Rotverschiebung des Absorptionsmaximums. So ab-

sorbieren typische Cyanin-Farbstoffe mit 1 bis 5 Methin-Einheiten im sichtbaren Lichtspektrum, solche mit 7 dagegen bereits im nahen Infrarot. Bruns Team synthetisierte in einer früheren Arbeit den bei 1.027 Nanometern absorbierenden Flavylumheptamethin-Farbstoff Flav7, bei dem die zwei Heterozyklen (Flavylum) durch sieben Methin-Einheiten verknüpft sind (*Angew. Chem. Int. Ed.* 56:13126-9).

Um das Absorptionsmaximum zu kürzeren oder längeren Wellenlängen zu verschieben, ergänzten die Forscher die Flavylum-Heterozyklen mit verschiedenen Gruppen. Sie erhielten hierdurch eine Serie von Flavylumheptamethin-Farbstoffen mit Absorptionsmaxima zwischen 980 und 1.070 Nanometern, die sie für das SWIR-*Imaging* von Mäusen einsetzen.

### Logik-Operationen mit Farbstoffen

Ein neuartiges Farbstoff-Konzept schuf das US-Start-up Phitonex mit der sogenannten Phiton-Plattform. Phitonex wurde 2017 von dem Computerwissenschaftler Alvin R. Lebeck und dessen Doktoranden Craig LaBoda von der *Duke University* in Durham, USA, gegründet.

Stellt sich natürlich die Frage: Wie kommt ein Spezialist für die Architektur von Computersystemen dazu, sich neue Fluoreszenz-Label auszudenken? Die Antwort liefert LaBoda das ziemlich außergewöhnliche Doktorarbeit. In dieser versuchte er, klassische Fluorophore mithilfe des Resonanz-Energie-Transfers (RET) so zu vernetzen, dass sie logische Operationen durchführen können, wie zum Beispiel UND, ODER, NAND oder NOR, auf denen auch Computer-Schaltkreise basieren.

Für dieses Netzwerk benötigte LaBoda eine Gitterstruktur, auf der er verschiedene Fluorophore im jeweils passenden Abstand zueinander anordnen konnte. Inspiriert durch Publikationen zu DNA-Origamis kam er auf die Idee, dieses mit DNA herzustellen. Dazu mischte er zunächst ausgesuchte DNA-Einzelstränge miteinander, an die er die benötigten Fluorophore angehängt hatte. Durch Selbst-Assemblierung bildeten diese kreuzförmige Strukturen (Phitons), die sich schließlich zu einem DNA-Gitter vereinten.

Offenbar erkannten LaBoda und Lebeck schnell, dass sich die mit Fluorophoren bestückten Phitons nicht nur zur Herstellung ziemlich abgedrehter RET-Schaltkreise eignen, sondern auch für die Produktion von Fluoreszenz-Proben. Inzwischen hat das Start-up eine bunte Palette Phiton-basierter Farbstoffe im Angebot, die von blau bis rot reicht. Zumindest im Moment lässt sich damit sicher mehr Geld verdienen als mit Logik-Schaltkreisen, die auf dem Resonanz-Energie-Transfer basieren.

Harald Zähringer

# Neue Fluoreszenzfarbstoffe

## Produktübersicht

ANBIETER HERSTELLER	PRODUKT- NAME	FARBE	SONSTIGES, BESONDERHEITEN, ALLGEMEINES	PREIS / EURO
<b>Bio-Rad Laboratories</b> Feldkirchen <a href="https://info.bio-rad.com">https://info.bio-rad.com</a> <b>Kontakt:</b> Tel. +49 89 31884 177 <a href="mailto:info.sales.lsg@bio-rad.com">info.sales.lsg@bio-rad.com</a>	StarBright Violet 515	Anregung bei 405 nm; Emission bei 515 nm	Fluoreszenzfarbstoff mit engem Anregungs- und Emissionsspektrum für die Durchflusszytometrie   Flexible Einsatzmöglichkeiten   Hohe Stabilität und Reproduzierbarkeit von Lot zu Lot	358,-
	StarBright Blue 700	Anregung bei 488 nm; Emission bei 700 nm	s.o.	358,-
<b>Bio-Techne (Tocris Brand)</b> Wiesbaden <a href="http://www.bio-techne.com">www.bio-techne.com</a> <b>Kontakt:</b> Tel. +49 6122 90980 <a href="mailto:thomas.apel@bio-techne.com">thomas.apel@bio-techne.com</a>	Janelia Fluor 525, SE 549, SE 585, SE 635, SE 646, SE 669, SE 549, Azide 549, Tetrazine 646, Azide 646, Tetrazine 549, Maleimide 646, Maleimide	Gelb Orange Orange Rot Rot Fernes Rot Gelb Gelb Rot Rot Gelb Rot	Sehr hell   Für höchstauflösende Mikroskopie (SRM) geeignet Hell und photostabil   Für SRM geeignet, inklusive dSTORM und STED Sehr heller, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet Sehr heller, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet Heller, photostabiler, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet inkl. dSTORM & STED Hell und sehr photostabil   Für SRM geeignet Hell und photostabil   Für SRM geeignet inklusive dSTORM und STED Hell und photostabil   Für SRM geeignet inklusive dSTORM und STED Heller, photostabiler, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet inkl. dSTORM & STED Heller, photostabiler, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet inkl. dSTORM & STED Hell und photostabil   Für SRM geeignet inklusive dSTORM und STED Heller, photostabiler, fluorogener Farbstoff   Für SRM geeignet inkl. dSTORM & STED	339,- (2 mg) 335,- (2 mg) 345,- (2 mg) 339,- (2 mg) 247,- (1 mg) 268,- (2 mg) 350,- (2 mg) 350,- (200 µg) 350,- (200 µg) 345,- (200 µg) 370,- (2 mg) 335,- (2 mg)
	PA Janelia Fluor 549, SE und 646, SE	Gelb Rot	Hell und photoaktivierbar   Für PALM geeignet	149,- (300 µg)
<b>Biozol Diagnostica</b> Eching <a href="http://www.biozol.de">www.biozol.de</a> <b>Kontakt:</b> Tel. +49 89 3799666 6 <a href="mailto:info@biozol.de">info@biozol.de</a>	iFluor... 350 und 405 ...430, 450, 488 ...514, 532, 546, 555	Blau Grün Gelb	Zell-Imaging, Durchflusszytometrie, Western Blotting etc.   Sehr hell, hohes Signal-Rausch-Verhältnis, verbesserte Photostabilität, pH-unempfindlich	Auf Anfrage
	iFluor... 560 ... 568 ... 594, 610, 633 ... 647, 660, 670, 680, 700 ... 710, 750, 790, 800, 810, 820, 840, 860	Orange Orange-Rot Rot Tief-/Infrarot  Infrarot	Zell-Imaging, Durchflusszytometrie, Western Blotting etc.   Sehr hell, hohes Signal-Rausch-Verhältnis, verbesserte Photostabilität, pH-unempfindlich	Auf Anfrage
	mFluor... UV375 ...Violet 450, UV460 ...Violet 500, 510, 540 ...Blue 570, 580	Violett Blau Grün Orange	Hell, photostabil und gut löslich   Starke Fluoreszenzemission über einen breiten pH-Bereich mit geringer pH-Empfindlichkeit	Auf Anfrage
	mFluor... Violet 610, Green 620, Yellow 630, Green 630 ...Blue 660, Red 700 ...Red 780	Rot  Tief-/Infrarot Infrarot	Hell, photostabil und gut löslich   Starke Fluoreszenzemission über einen breiten pH-Bereich mit geringer pH-Empfindlichkeit	Auf Anfrage
	CF350 CF405S CF405M	Blau Blau Blau	Superhelles Blau-Fluoreszenz-Konjugat   Stark wasserlöslich, pH-unempfindlich Helleres Signal durch bessere Kompatibilität mit gängigen Instrumenten Photostabiler als Pacific Blue   Hervorragende Wahl für Super-Resolution-Imaging durch SIM	Auf Anfrage
	CF405L CF430 CF440 CF450 CF488A	Grün-Gelb Blau Grün Grün-Gelb Grün	Fluoreszenzfarbstoff für Mehrfarbendetektion Photostabil   Perfekt abgestimmt auf den CFP-Filtersatz Photostabil Violett anregbar Validiert für 2-Photonen-Mikroskopie und TIRF	Auf Anfrage
	CF503R CF514 CF532 CF535ST CF543 CF550R CF555 CF568	Grün-Gelb Grün-Gelb Gelb Gelb-Orange Gelb-Orange Gelb-Orange Orange Orange	Multispektrale Detektion oder FRET   Photostabiler Farbstoff auf Rhodaminbasis Unterscheidbar durch spektrale Entmischung von 488-nm-Farbstoffen Deutlich heller als Alexa Fluor 532 Farbstoff für STORM Deutlich heller als Alexa Fluor 546 Multispektrale Detektion oder FRET   Photostabiler Farbstoff auf Rhodaminbasis Heller als Cy3   Validiert in mehrfarbigem STORM Optimiert für die 568-nm-Linie des Ar-Kr-Mischgases	Auf Anfrage
	CF570 CF583 CF583R CF594  CF594ST	Rot Rot Rot Rot  Rot	Heller als Alexa Fluor 568 Heller als Cy3,5 Heller als Cy3,5 und Texas Red   Ideal für FRET in Verbindung mit R-PE Ergibt die hellsten Konjugate unter den spektral ähnlichen Farbstoffen   Äußerst photostabil und validiert in der 2-Photonen-Mikroskopie Speziell entwickelt für STORM	Auf Anfrage

## Neue Fluoreszenzfarbstoffe

ANBIETER HERSTELLER	PRODUKT-NAME	FARBE	SONSTIGES, BESONDERHEITEN, ALLGEMEINES	PREIS / EURO
<b>Biozol Diagnostica (Fortsetzung)</b> Kontakt siehe Seite 51	CF620R CF633	Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot	Stark fluoreszierender Farbstoff Ergibt die hellsten Antikörperkonjugate unter den spektral ähnlichen Farbstoffen   Photostabil und kompatibel mit supraauflösendem TIRF, FIONA und gSHRImP Hat die beste Photostabilität unter den Farbstoffen mit Cy5-ähnlichen Spektren   Kompatibel mit TIRF- und FLImP-Supraauflösungstechniken Heller als Cy5   Kompatibel mit mehrfarbiger Super-Resolution-Bildgebung von STORM Wesentlich heller und photostabiler als Alexa Fluor 660   Kompatibel mit mehrfarbiger Super-Resolution-Bildgebung von STORM Heller als Alexa Fluor 660   Der photostabilste 660-nm-Farbstoff Hellster unter den spektral ähnlichen 680-nm-Farbstoffen   Validiert in mehrfarbiger STORM- & 3D-Supraauflösungs-Bildgebung und kompatibel mit dem LI-COR Odyssey System Photostabilster 680-nm-Farbstoff   Geeignet zur Markierung von Nukleinsäuren und kleinen Biomolekülen, validiert für 2-Photonen-, STED-Mikroskopie und Einzelmolekülspektroskopie	Auf Anfrage
	CF640R CF647 CF660C CF660R CF680 CF680R	Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot Tief-/Infrarot		Außergewöhnlich hell und stabil   Patentierter Farbstoff PEGDye  Patentierter Farbstoff PEGDye   Validiert in photoakustisch. Bildgebung u. STORM Langwelliger Nah-Infrarot-Farbstoff   Patentierter Farbstoff PEGDye
<b>Dyomics</b> Jena www.dyomics.com <b>Kontakt:</b> Tel. +49 3641 646 864 info@dyomics.com	NG-MegaStokes Dyes	Blau bis Rot	Geringe Molmassen   NHS-Ester, Maleimide, Click-Chemie   Von Mikrogramm bis Gramm	Ab 147,-/mg
	UV-MegaStokes Dyes	Blau bis Rot	s.o.	Ab 147,-/mg
	DY-NIR dyes	Nahes Infrarot	s.o.	Ab 147,-/mg
<b>Enzo Life Sciences</b> Lörrach www.enzolifesciences.com <b>Kontakt:</b> Tel. +49 7621 5500 526 info-de@enzolifesciences.com techserv@enzolifesciences.com	7-Aminoactinomycin D (BML-AP400)	Rot (650 nm)	Bestimmung apoptotischer Zellen in der Durchflusszytometrie	100,- (1 mg)
	Acridine Orange	Grün (525 nm), Rot (650 nm)	Zellzyklusbestimmung   Grün für DNA, rot für RNA	80,- (100 mg)
	Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit	Grün (530 nm), Rot (636 nm)	Analyse von Apoptose und Nekrose mittels Durchflusszytometrie   Grün für apoptotische, rot für nekrotische Zellen	414,- / 610,- (100/300 Tests)
	Calcein AM	Grün (515 nm)	Detektion lebender Zellen mittels Durchflusszytometrie	145,- (1 mg)
	Cellular Senescence Live Cell Analysis Assay	Grün (520 nm)	Sensitive Quantifizierung zur Bestimmung von $\beta$ -Galactosidase-Aktivität mittels Durchflusszytometrie	317,- (10 Assays)
	Congo Red	Rot-Orange (614 nm)	Färbung von Amyloid-Proteinen	101,- (100 mg)
	Cyto-ID... Autophagy Detection Kit 2.0	Grün (530 nm), Blau (480 nm)	Quantifizierung von Autophagie-Vesikeln und autophagischem Fluss in lebenden Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Grün für Autophagie, blau für Zellkerne	235,- / 495,- (50 / 200 Tests)
	...Green/Red Long-Term Cell Tracer Kit	Grün (527 nm) Orange (583 nm)	Für lebende Zellen zur Langzeitdetektion ohne zytotoxische Effekte   Für Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer	236,- (1 Kit) 208,- (1 Kit)
	Dihydrorhodamine 123	Grün (529 nm)	Färbung von reaktiven Sauerstoffspezies	182,- (10 mg)
	Eflux-ID Gold / Green Multidrug Resistance Assay Kit	Gelb-Grün (570 nm) Grün (514 nm)	Bestimmung der Aktivität von ABC-Membrantransportern in lebenden Zellen zur Analyse von Arzneimittelresistenzen	566,- (1 Kit) 579,- (1 Kit)
	ER-ID Green Assay Kit / Red Assay Kit (GFP-Certified)	Gelb-Grün (551 nm) Rot (677 nm)	Anfärbung des Endoplasmatischen Retikulums in Live-Fluoreszenzmikroskopie	252,- (1 Kit) 250,- (1 Kit)
	Fluoforte Calcium Assay Kit	Grün (525 nm)	Messung der Calcium-Mobilisierung in lebenden Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer	357,- / 2.575,- (10/100x 96 Tests)
	Apoptosis/Necrosis (GFP-Certified)	Gelb (570 nm), Rot (647 nm)	Analyse von Apoptose und Nekrose mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Gelb für apoptotische, rot für nekrotische Zellen	175,- / 426,- (25/100 Assays)
	Lyso-ID... Red Detection Kit (GFP-Certified)	Rot (667 nm)	Selektive Anfärbung des Lysosoms für Live-Fluoreszenzmikroskopie	86,- / 270,- (100/500 Tests)
...Red Cytotoxicity Kit (GFP-Certified)	Rot (680 nm)	Analyse von lysosomaler Degradation zur Bestimmung von Zytotoxizität mittels Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer	353,- (1 Kit)	
...Green Detection Kit	Grün (544 nm)	Selektive Anfärbung des Lysosoms für Live-Fluoreszenzmikroskopie	93,- / 275,- (100/500 Tests)	
Fluoforte Calcium Assay Kit (GFP-Certified)	Gelb (570 nm)	Messung der Calcium-Mobilisierung in lebenden Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer	479,- / 3.349,- (10/100x 96 Tests)	

ANBIETER HERSTELLER	PRODUKT- NAME	FARBE	SONSTIGES, BESONDERHEITEN, ALLGEMEINES	PREIS / EURO
<b>Enzo Life Sciences</b> <b>(Fortsetzung)</b> Kontakt siehe Seite 52	Golgi ID Green	Grün (534 nm)	Selektive Anfärbung des Golgi-Apparates für Live-Fluoreszenzmikroskopie	250,- (1 Kit)
	Mito-ID Green Detection Kit	Grün-Gelb (560 nm), Blau (461 nm)	Selektive Anfärbung und Quantifizierung von Mitochondrien mittels Live-Fluoreszenzmikroskopie und Photometer   Grün-Gelb für Mitochondrien, blau für Zellkerne	91,- / 272,- (100/500 Tests)
	Mito-ID Membrane Potential Detection Kit	Grün (530 nm), Gelb (570 nm), Rot (674 nm)	Bestimmung des Membranpotentials von Mitochondrien in lebenden Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie und Durchflusszytometrie   Grün für depolarisierte Mitochondrien, gelb für aktive Mitochondrien, rot für sterbende Zellen	173,- / 478,- (25/100 Tests)
	Mito-ID Red Detection Kit (GFP-Certified)	Rot (690 nm), Blau (461 nm)	Selektive Anfärbung und Quantifizierung von Mitochondrien mittels Live-Fluoreszenzmikroskopie und Photometer   Rot für Mitochondrien, blau für Zellkerne	87,- / 275,- (100/500 Tests)
	Nuclear-ID... Blue DNA Stain (GFP-Certified)	Blau (461 nm)	Anfärbung von Zellkernen in lebenden oder fixierten Zellen für Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie	217,- (200 µl)
	...Blue/Green Cell Viability Reagent	Blau (461 nm), Grün (524 nm)	Unterscheidung von lebenden und toten Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Blau für lebende, grün für tote Zellen	278,- (100 µl)
	...Blue/Red Cell Viability Reagent (GFP-Certified)	Blau (461 nm), Rot (639 nm)	Unterscheidung von lebenden und toten Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Blau für lebende, rot für tote Zellen	271,- (100 µl)
	Nuclear-ID Green... ...Cell Cycle Kit	Grün (530 nm)	Analyse der verschiedenen Zellzyklus-Stadien mittels Durchflusszytometrie oder Fluoreszenzmikroskopie	327,- (1 Kit)
	...Chromatin Condensation Detection Kit	Grün (514 nm)	Visualisierung und Quantifizierung von kondensiertem Chromatin mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer	306,- (1 Kit)
	Nuclear-ID... ...Red DNA Stain	Rot (650 nm)	Anfärbung von Zellkernen in lebenden oder fixierten Zellen für Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie	372,- (200 µl)
	...Red Cell Cycle Kit (GFP-Certified)	Rot (650 nm)	Analyse der verschiedenen Zellzyklus-Stadien mittels Durchflusszytometrie	381,- (1 Kit)
	...Red/Green Cell Viability Reagent	Rot (632 nm), Grün (524 nm)	Unterscheidung von lebenden und toten Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Rot für lebende, grün für tote Zellen	272,- (100 µl)
	...Green Detection Kit	Grün (490 nm)	Anfärbung von Nukleoli für Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie	193,- (1 Kit)
	Organelle-ID-RGB... III Assay Kit	Blau (461 nm), Grün (534), Rot (677)	Anfärbung von Zellkernen, Endoplasmatischem Retikulum und Golgi-Apparat   Blau für Zellkerne, grün für Golgi, rot für ER	365,- (1 Kit)
	Organelle-ID-RGB Reagent I	Blau (461 nm), Grün (560), Rot (667)	Anfärbung von Zellkernen, Mitochondrien und Lysosomen   Blau für Zellkerne, grün für Mitochondrien, rot für Lysosome	360,- (200 µl)
	Organelle-ID-RGB Reagent II	Blau (461 nm), Grün (565 nm), Rot (667)	Anfärbung von Zellkernen, Endoplasmatischem Retikulum und Lysosomen für Live-Fluoreszenzmikroskopie und Durchflusszytometrie   Blau für Zellkerne, grün für ER, rot für Lysosome	360,- (200 µl)
	Organelle-ID-RGB Reagent IV for Microscopy	Blau (461 nm), Grün (544 nm), Rot (677 nm)	Anfärbung von Zellkernen, Endoplasmatischem Retikulum und Lysosomen für Live-Fluoreszenzmikroskopie und Durchflusszytometrie   Blau für Zellkerne, grün für Lysosomen und rot für ER	360,- (200 µl)
Proteostat Aggresome Detection Kit	Blau (461 nm), Rot (600 nm)	Visualisierung und Quantifizierung von Aggresomen in lebenden Zellen mittels Durchflusszytometrie, Fluoreszenzmikroskopie oder Photometer   Blau für Zellkerne, rot für Aggresome	115,-/317,- (25 /100 Tests)	
ROS-ID Hypoxia/Oxidative Stress Detection Kit	Grün (524 nm), Orange (595 nm)	Gleichzeitige Analyse von oxidativem Stress und Hypoxie in lebenden Zellen mittels Durchflusszytometrie oder Fluoreszenzmikroskopie   Grün für oxidativen Stress und orange für Hypoxie	113,-/391,- (125/500 Tests)	
ROS-ID ROS/RNS Detection Kit	Grün (524 nm), Gelb (590 nm), Rot (666 nm)	Visualisierung und Quantifizierung von reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies in lebenden Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie, Durchflusszytometrie oder Photometer   Grün für oxidativen Stress, gelb für Superoxid, rot für Stickoxid	151,- (1 Kit)	
ROS-ID Superoxide Detection Kit	Gelb (590 nm)	Visualisierung und Quantifizierung von Superoxid in lebenden Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie, Durchflusszytometrie oder Photometer	190,- (1 Kit)	
ROS-ID Total ROS Detection Kit	Grün (525 nm)	Direkte Detektion und Quantifizierung globaler reaktiver Sauerstoffspezies in lebenden Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie, Durchflusszytometrie, Photometer	191,- (1 Kit)	
ROS-ID Total ROS/Superoxide Detection Kit	Grün (525 nm), Orange (620 nm)	Visualisierung und Quantifizierung von reaktiven Sauerstoffspezies und Superoxid in lebenden Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie, Durchflusszytometrie oder Photometer   Grün für reaktive Sauerstoffspezies, orange für Superoxid	254,- (1 Kit)	
Total-Nuclear-ID Green/Red Nucleolar/Nuclear Detection Kit	Grün (490 nm), Rot (650 nm)	Anfärbung von Zellkernen und Nukleoli für Fluoreszenzmikroskopie   Grün für Nukleoli, rot für Zellkerne	283,- (1 Kit)	
<b>highQu</b> Kraichtal www.highQu.com Kontakt: Frank Sehlmeier Tel. +49 7250 44 13 401 info@highQu.com	StainIN Red Nucleic Acid Stain	Rot	Färben von Nucleinsäuren in Agarose und Polyacrylamid-Gelen   Zweimal sensitiver als EtBr	98,-
	StainIN Green Nucleic Acid Stain	Grün	Färben von Nucleinsäuren in Agarose und Polyacrylamid-Gelen   Zweimal sensitiver als EtBr   Viermal sensitiver als EtBr, wenn eine blaue LED für die Detektion eingesetzt wird   Färbt DNA grün und RNA rot	98,-

## Neue Fluoreszenzfarbstoffe

ANBIETER HERSTELLER	PRODUKT- NAME	FARBE	SONSTIGES, BESONDERHEITEN, ALLGEMEINES	PREIS / EURO
<b>IBA Lifesciences</b> Göttingen www.iba-lifesciences.de <b>Kontakt:</b> Tel. +49 55150672 info@iba-lifesciences.com	Strep-Tactin PE Strep-Tactin APC	Rot-Orange Rot	Label-freie/reversible Färbung von Zellen   Bindung von Strep-Tactin ist reversibel und kann über Biotin abgelöst werden   Ausreichend für $5 \times 10^7$ bis $1 \times 10^8$ Zellen	Ab 241,40 (50 µl)
	Strep-TactinXT DY-488 Strep-TactinXT DY-549	Grün Gelb-Grün	Detektion von Strep-tagII- oder Twin-Strep-tag-Proteinen   Strep-TactinXT weist nM-Affinität f. Strep-tagII-Proteine & pM-Affinität f. Twin-Strep-tag-Proteine auf	Ab 174,- (50 µg)
	Strep-TactinXT DY-649	Dunkelrot	s.o.   Absorption/Emission: 655/676 nm	Ab 174,- (50 µg)
	StrepMAB-Immo DY-488 / DY-549 / DY-649	Grün / Gelb-Grün / Dunkelrot	Detektion von Strep-tagII- bzw. Twin-Strep-tag-Proteinen   Bindung von StrepMAB-Immo DY-488 ist irreversibel	Ab 242,- (50 µg)
<b>Lumiprobe</b> Hannover www.lumiprobe.com <b>Kontakt:</b> Tel. +49 511 16596811 de@lumiprobe.com	AF488 NHS-Ester	Grün	Wasserlöslich, kovalente Markierung von Aminogruppen   1 mg / 100 mg	105,- / 1.880,-
	Joe	Gelb	Derivate für Click-Chemie-Reaktionen   1 mg / 100 mg	105,- / 1.090,-
	Joe-Phosphoramidit, 5-Isomer	Gelb	Oligonukleotidsynthese	480,- pro g
	BDP 630/650	Rot	Hohe Quantenausbeute   Fluoreszenzlebensdauer für Fluoreszenzpolarisationsmessung geeignet   Verschiedene reaktive Gruppen erhältlich   1 mg / 100 mg	105,- / 1.090,-
	BDP 650/665	Rot	Hohe Quantenausbeute   Verschiedene reaktive Gruppen erhältlich   1 mg / 100 mg	105,- / 1.090,-
	Sulfo-Cyanin 7.5	Nah-Infrarot (NIR)	Wasserlöslicher Fluorophor mit guter optischer Gewebedurchdringung   Verschiedene reaktive Gruppen erhältlich   1 mg / 100 mg	105,- / 1.880,-
	Pico488 dsDNA Quantification Reagent	Grün	Quantifizierung doppelsträngiger DNA (von wenigen pg/ml bis zu hohen ng/ml-Werten)   200x-Lösung	270,- pro ml
	ProteOrange Protein Quantificat. Reagent	Orange	Sensitive Proteinquantifizierung   500x-Lösung	160,- pro ml
<b>Miltenyi Biotec</b> Bergisch Gladbach www.miltenyibiotec.de <b>Kontakt:</b> Tel. +49 2204 8306-3031 MACSales@miltenyibiotec.de	CD56, CD4, CD19, CD25, CD127 Antibody, Anti-Human, REAfinity	Konjugiert mit Vio Bright V423	Hellster Miltenyi-Farbstoff für Violett-laser im Durchflusszytometer   Überragende Performance bei der Erkennung seltener Zellen und schwacher Marker sowie minimaler Spillover   Verbesserte Reproduzierbarkeit	309,- (100 Tests)
	CD3ε (intracellular) Antibody, Anti-Human/Mouse, REAfinity	Rot (Vio B515)	Hellere Alternative zu FITC   Für den Nachweis intrazellulärer Marker mittels Durchflusszytometrie   Optimal für den Einsatz in Fluoreszenzmikroskopie-Anwendungen mit höherer Photostabilität im Vergleich zu Alexa Fluor 488	237,- (100 Tests)
	FoxP3 Antibody, Anti-Mouse, REAfinity	Rot (Vio B515)	s.o.	237,- (500 Tests)
	Cytokeratin Antibody, Anti-Human, REAfinity	Rot (Vio B515)	s.o.	237,- (100 Tests)
	Ki-67 Antibody, Anti-Human/Mouse, REAfinityPerforin / CD152 Antibody, Anti-Human, REAfinity	(Vio R667)	Sehr gute Alternative für APC   Ausgezeichnete Auflösung intrazellulärer und intranukleärer Marker   Optimal für die Fluoreszenzmikroskopie   Photostabiler als Alexa Fluor 647	237,- (100 Tests)
	CD14 / CD16 / CD69 Antibody, Anti-Human, REAfinity	(APC-Vio 770)	Tandemfarbstoff mit hoher Fluoreszenzintensität, minimalem Spillover und geringer unspezifischer Bindung an Nicht-Zielzellen   Für Multiparameter-Durchflusszytometrie   Hohe MFI- und Stain-Index-Werte, niedrige Kompensationseinstellungen	247,- (100 Tests)
	Weitere 15.000+ Antikörper im Katalog	VioBlue, VioGreen, Vio Bright B515, PE-Vio 770, PerCP-Vio 770, PE-Vio 6150	Durchflusszytometrie, Immunofluoreszenz	Ab 32,-
	<b>Phitonex</b> Durham, North Carolina, USA www.phitonex.com <b>Kontakt:</b> Tel. +1 888-796-8658 info@phitonex.com	NovaFluor Konjugationskit	NovaBlue 530, 610, 660; NovaYellow 570, 610, 660	Konjugationskit für Oligo-Tags mit bis zu 6 Antikörpern   Inklusive NovaBlock-Lösung für Durchflusszytometrie
Mouse CD4 Wave 2 Label Characterization Kit Human CD4 Wave 2 Label Characterization Kit		NovaBlue 510, 555, 585, 610/70S, 660/120S; NovaYellow 590, 690, 700, 720; NovaRed 660, 685, 700, 710	Jedes Kit enthält 13 verschiedene NovaFluor-Formate von Anti-Mouse-CD4-Antikörper (Klon GK1.5) und 10 Tests jedes Antikörpers pro Fläschchen   Versand schrittweise ab Ende Dezember Jedes Kit enthält 13 verschiedene NovaFluor-Formate von Anti-Human-CD4-Antikörper (Klon SK3) und 10 Tests jedes Antikörpers pro Fläschchen   Versand schrittweise ab Ende Dezember	988,- US-Dollar
NovaFluor-Konjugationskit Wave2		NovaRed 660, 685, 700; NovaYellow 690, 700, 590, 720; NovaBlue 510, 555, 610/70S, 660/120S; 585	Konjugation von bis zu 100 µg Antikörper   Enthält NovaBlock-Lösung für die Durchflusszytometrie   Versand Anfang Dezember	460,- US-Dollar

## Produktübersicht

ANBIETER HERSTELLER	PRODUKT- NAME	FARBE	SONSTIGES, BESONDERHEITEN, ALLGEMEINES	PREIS / EURO
<b>Phitonex (Fortsetzung)</b> Kontakt siehe Seite 54	NovaFluor-Konjugationskit	NovaYellow 660, 610, 570; NovaBlue 660, 610, 530	s.o.	460,- US-Dollar
	Zahlreiche Antikörper (benutzerdefiniert)	z.B. NovaBlue 530, Anti-Human CD14	Antikörper in einer Mindestbestellmenge von 1 mg können individuell konjugiert werden   Konjugationskits auch in größeren Formaten erhältlich	Ab 178,- US-Dollar
<b>Promega</b> Walldorf www.promega.com <b>Kontakt:</b> Tel. +49 6227 6906 0 de_techserv@promega.com	HaloTag-Liganden	HaloTag Coumarin, Oregon Green, diAcFAM, R110 Direct, TMR Direct; HaloTag Alexa Fluor 488, 660	Schnelles, kovalentes Protein-Labeling   Verschiedene Farben   Keine Waschschrötte   Zwei-Farben-Protein-Trafficking	Ab 272,-
	HaloTag-Liganden für höchstaufösende Mikroskopie	Janelia Fluor 549 HaloTag, Janelia Fluor 646 HaloTag und mehr	Einzel-Molekül-Monitoring   Schnelles, kovalentes Protein-Labeling   Hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis und hohe Spezifität	Ab 323,-
<b>PromoCell</b> Heidelberg www.promocell.com <b>Kontakt:</b> Technischer Service Tel. +49 6221 64934-0 info@promocell.com	PromoFluor	Blau bis Nah-Infrarot	Hohe Lichtabsorption und Fluoreszenzintensität über weiten pH-Bereich   Sehr gute Wasserlöslichkeit und Stabilität   NHS-Ester, Maleimide, Amino-modifizierte Label & freie Carboxylsäuren sowie Konjugate mit Biotin, Phalloidin, dUTP, UTP & Komponenten v. Protein-/Antikörper-, DNA-, RNA-Labeling-Kits   Viele Formate & Größen	Auf Anfrage
	Cy3, Cy5, Texas Red	Gelb, Rot	Gute Lichtabsorption und Fluoreszenzintensität   Erhältlich nur als Konjugate mit dUTP, UTP und Phalloidin (nur TexasRed) sowie als Komponenten von DNA- und RNA-Labeling-Kits   Verschiedene Größen	Auf Anfrage
	Membrane Stain-Fix	488Fix, 550Fix, 640Fix	Akkumulieren schnell und stabil in der Zytoplasma-Membran   Kompatibel mit Permeabilisierungs- und Fixierungsmethoden   Sehr gute Wasserlöslichkeit und Stabilität   Nicht-toxisch	169,- /1 Vial 479,- /5 Vials
	Cell Surface Fixable Staining Kits	--	Binden an Zelloberflächenproteine   Kompatibel mit Permeabilisierungs- und Fixiermethoden   Sehr gute Wasserlöslichkeit und Stabilität   Nicht-toxisch	199,- /529,- 100/500 Labelings
	Live/Dead Fixable Staining Kits	--	Unterscheidung lebender und toter Zellen mittels Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie   Sehr stabil, kompatibel mit Fixierprozeduren   Farbstoff bleibt in den Zellen	279,- /200 Assays
	CellGreen & CellBlue Cell Proliferation Kits	Blau, Grün	Für Langzeitfluoreszenzfärbung/Monitoring lebender Zellen   Farbstoff bleibt in den Zellen   Sehr stabile Fluoreszenzfärbung, kompatibel mit Fixierprozeduren	69,- bis 85,- 339,- bis 399,- (100/1000 Ass.)
	Cell Stains	Blau bis Infrarot	Zahlreiche Fluoreszenzfarbstoffe zur Detektion von lebenden, toten oder apoptotischen Zellen, zur Detektion von zellulären Prozessen etc.	Siehe Webshop
<b>Serva Electrophoresis</b> Heidelberg www.serva.de <b>Kontakt:</b> Judith Koch Tel. +49 62211384044 info@serva.de	Dye 488 Dye 488 Mikro Dye 550 Dye 550 Mikro Dye 645 Dye 645 Mikro Dye 770 Dye 770 Mikro	Grün Rot Hellrot Nah-Infrarot	Antikörper-Markierungskits bzw. Mikro-Antikörper-Markierungskits   Fluoreszenz-Markierung von Molekülen mit primärer Aminogruppe   Hervorragendes Signal-Rausch-Verhältnis durch niedrigen Hintergrund   Enthält gebrauchsfertigen Farbstoff, Gelfiltrationssäulen und alle benötigten Puffer   1x 1 mg Antikörper 2x 1 mg Antikörper 3x 50–100 µg Antikörper	170,- 268,- 262,-
	VitalStain Violet 500 VitalStain Blau 520 VitalStain Rot 660 VitalStain Rot 780	Violett Blau Rot Rot	Fixierbarer Viabilitäts-Farbstoff   Färbemuster bleibt nach der Fixierung und/oder Permeabilisierung der Zellen erhalten   Gebrauchsfertiger Kit, mit DMSO auf Testgrößen-Formulierung vorverdünnt	88,- (100 Tests)
<b>tebu-bio</b> Offenbach www.tebu-bio.com <b>Kontakt:</b> Tel. +49 69 801013-0 germany@tebu-bio.com	SPY505-DNA SPY555-DNA SPY555-actin/tubulin SPY595-DNA SPY620-actin/DNA SPY650-DNA/tubulin (Spirochrome)	Grün Pink Pink/Pink Gelb Orange/Orange Rot/Rot	Neue fluorogene Live-Cell-Fluoreszenz-Proben für verschiedene Kanäle   Photostabil, STED/SIM-kompatibel, nicht zytotoxisch, hohe Membrangängigkeit, brauchen nicht ausgewaschen zu werden   Erhältlich für DNA (Zellkern), Aktin und Mikrotubuli	295,- 295,- 395,- / 395,- 295,- 395,- / 295,- 295,- / 395,-
	SIR650-BG, SIR700-BG SPY555-BG, SPY620-BG (Spirochrome)	Rot, Rot Pink Orange	Zell-permeable Benzylguanin-Substrate für Live-Cell-Imaging von SNAP-Tag-gelabelten Proteinen	Je 295,-
	MemGlow 488/560 MemGlow 590/640 MemGlow 700 (Cytoskeleton Inc.)	FITC/TRITC Cy3.5/Cy5 Cy5.5	Leuchtende, fluorogene, nicht-toxische Live-Cell-Membransonden mit hoher Spezifität, geringem Hintergrund und einfacher Anwendung   Für fixierte Zellen und Gewebe, Lebendzellfärbung sowie Phospholipidmembranen   Validiert für Weitfeld-, Konfokal-, 2-Photonen-Mikroskopie, TIRF1	Je 254,-



Ich kenne da einen Trick...

## In 40 Tagen vom Arabidopsis-Sämling zu neuen Samen

Die Aufzucht von *Arabidopsis* für die Phänotypisierung ist ein zeitaufwendiges und mühsames Geschäft. Taras Pasternak und Klaus Palme von der Universität Freiburg entwickelten zusammen mit ihrem Kollegen Benedetto Ruperti von der Universität Padua ein Verfahren, das die Kultur vereinfacht und beschleunigt.

Pflanzenphänotypisierung ist die quantitative Analyse der Wechselwirkung einer Pflanze mit ihrer Umwelt. Der Phänotyp ist sowohl vom Genotyp als auch von der Umgebung abhängig.

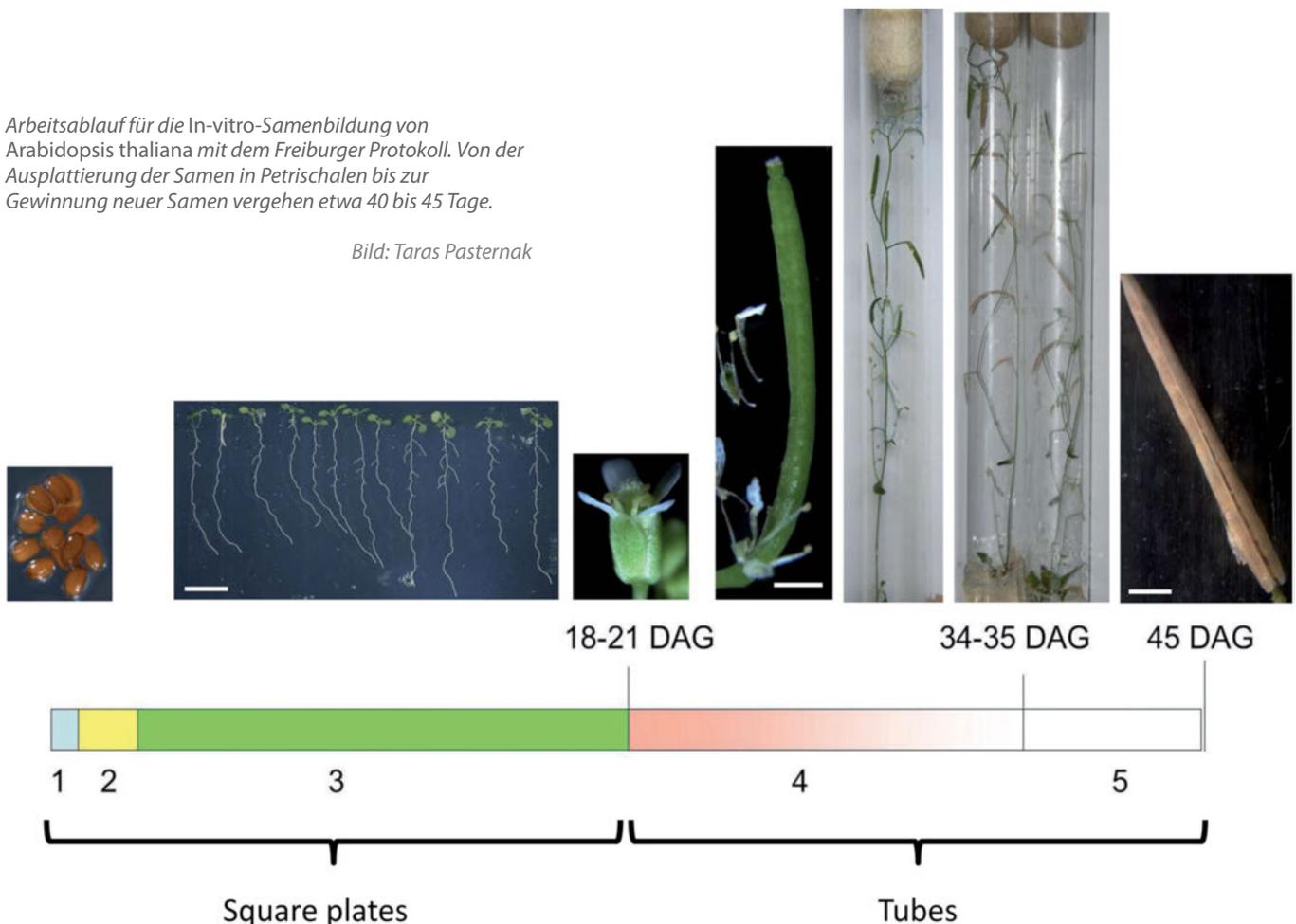
Besonders gut lässt er sich bei der Acker-schmalwand *Arabidopsis thaliana* beobachten, die einen extrem kurzen Lebenszyklus und ein kleines Genom aufweist. Sie ist deshalb die beliebteste Pflanze der Pflanzenmolekularbiologie.

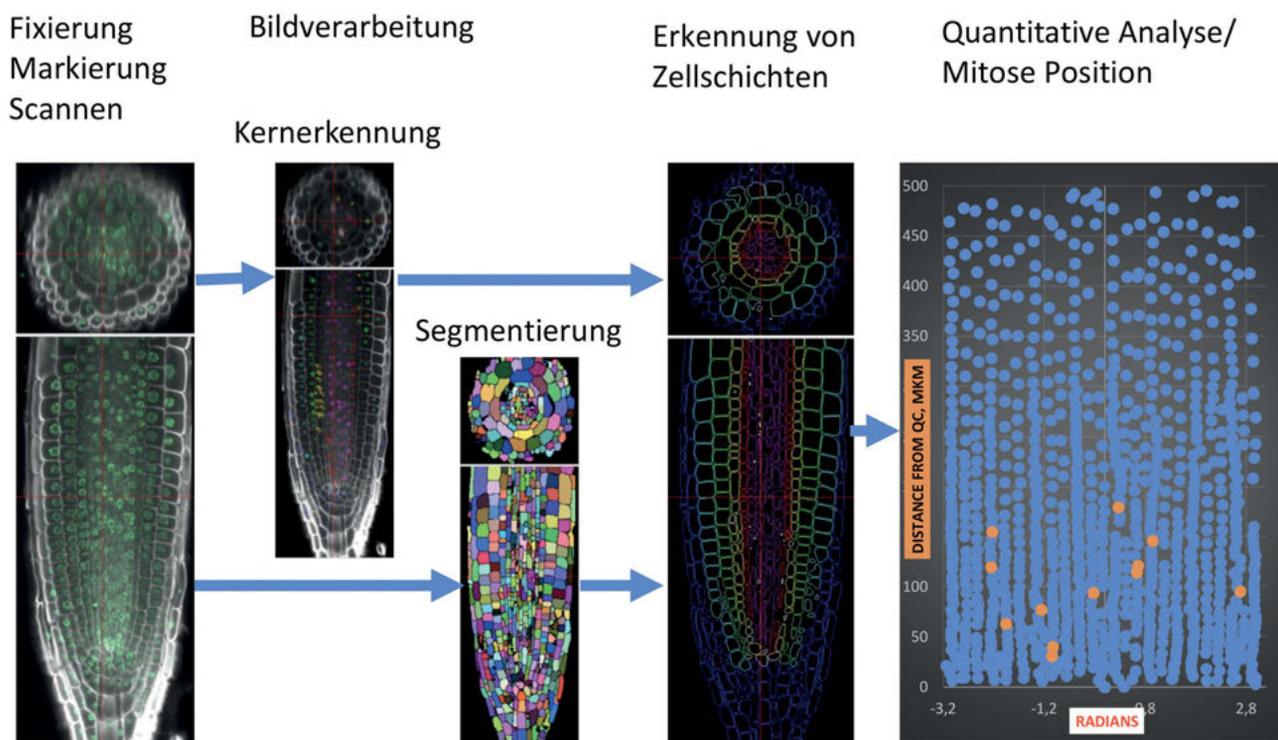
Die *Arabidopsis*-Forschung stützt sich weitgehend auf die phänotypische Analyse der Sämlinge und Charakterisierung der Pflanzenreaktionen auf intrinsische und extrinsische Reize während des *In-vitro*-Wachstums. Deshalb sollten optimale, stressfreie Wachstumsbedingungen geschaffen und als Referenz verwendet werden – insbesondere in Studien, die darauf abzielen, die pflanzlichen Reaktionen auf abiotischen und biotischen Stress zu charakterisieren.

Bei den derzeit verwendeten Standard-Protokollen für die *In-vitro*-Kultur und Charakterisierung von *Arabidopsis* ist die Zusammensetzung des Wachstumsmediums aber nicht optimal. Der unausgeglichene Nährstoffgehalt kann bei den Pflanzen Stressreaktionen auslösen und hierdurch die Ergebnisse von Experimenten verfälschen. Darüber hinaus erfordern die Protokolle das Umpflanzen in Töpfe mit Erde, regelmäßige Bewässerung, spezielle Kultursysteme wie zum Beispiel das

Arbeitsablauf für die *In-vitro*-Samenbildung von *Arabidopsis thaliana* mit dem Freiburger Protokoll. Von der Ausplattierung der Samen in Petrischalen bis zur Gewinnung neuer Samen vergehen etwa 40 bis 45 Tage.

Bild: Taras Pasternak





Während der ersten drei Wochen der In-vitro-Kultur können die Pflanzen phänotypisiert werden. Zusätzlich kann auch das apikale Wurzelmeristem analysiert werden. Dazu wird ein kleines Stück der Wurzelspitze geschnitten und nach der Fixierung untersucht.

Bild: Taras Pasternak

ARA-System und ein Gewächshaus. Dies ist nicht nur mit viel Arbeit verbunden, sondern auch mit viel Abfall.

Ist es möglich, die *Arabidopsis*-Kultur einfacher und standardisierter durchzuführen? Durchaus. Wir haben ein einfaches Protokoll für die *In-vitro*-Kultur von *Arabidopsis*-Pflanzen entwickelt, das auf einem optimierten und ernährungsphysiologisch ausgewogenen Kulturmedium basiert. Das Protokoll ist für die Kultur verschiedener *Arabidopsis*-Mutanten robust anwendbar, einschließlich Mutanten ohne Wurzelsystem (*BioRxiv*, doi:10.1101/2020.08.23.263491).

Unser *In-vitro*-Protokoll ermöglicht die schnelle Samenproduktion im großen Maßstab. Die Pflanzen müssen nicht in Boden eingepflanzt werden, was Platz und Zeit spart. Die *In-vitro*-Kultur findet in einem optimierten Medium statt, dessen Nährstoffgehalt so nah wie möglich an die natürlichen Bodenbedingungen angepasst ist. Durch die Standardisierung aller Kultur-Schritte während des Pflanzenwachstums ermöglicht das Protokoll phänotypische und molekulare Untersuchungen einzelner Pflanzen sowie die Samenbildung auch bei Genotypen mit schwerem Defekt im Wurzelsystem. Darüber hinaus reduziert es die Abfallmenge und den für die Pflanzenkultur nötigen Platz.

Die Kultivierung verläuft in zwei Schritten, wobei alle Arbeitsabläufe von der Samenpflanzung bis zur Gewinnung neuer Samen in einer sterilen *Laminar-Flow-Bank* durchgeführt werden sollten. Im ersten Schritt wachsen die Sämlinge zwanzig Tage auf einer vertikalen qua-

dratischen Petrischale in einem optimierten TK1-Medium. Das TK1-Medium wurde nach sorgfältiger Bewertung der Funktionen und Auswirkungen aller Nährstoffe auf die Pflanzenentwicklung zusammengestellt und basiert auf einem ausgeglichenen NPK-Verhältnis. Anschließend werden die Pflanzen zwanzig Tage in einem zwanzig Zentimeter langen Reagenzglas mit Hoagland-Medium bis zur Samenbildung und Trocknung kultiviert (siehe Abbildung gegenüber).

### Präzise Phänotypisierung

Im ersten Schritt der Kultivierung ist eine präzise Phänotypisierung der Pflanzen möglich, etwa durch regelmäßiges Scannen der Schale sowie Analyse von Wurzelsystemarchitektur und Sprosskinetik.

Zusätzlich zur Morphologie auf Organebene ermöglicht das System die Untersuchung der Einzelzellauflösung des apikalen Wurzelmeristems. Eine ein Zentimeter lange Wurzelspitze kann geschnitten, fixiert und hinsichtlich der Zellmerkmale, Genexpression, Zellzyklus und Chromatin-Status analysiert werden (siehe Abbildung oben).

Auch die Expression eines Fluoreszenz-Markers kann unter einem Binokularmikroskop, das mit einer Leuchtstofflampe ausgestattet ist, direkt auf den Platten nachgewiesen werden. Die Pflanzen können zusätzlich nummeriert werden, um die Kinetik der Entwicklung einfach zu überwachen.

Der zweite Schritt der Kultivierung beginnt, sobald die Blüten erscheinen. Der Spross

wird in ein Reagenzglas überführt, das 2,5 Milliliter Hoagland-Medium enthält. Bei Bedarf können Wurzeln zur DNA-Isolierung und Genotypisierung verwendet werden.

Für eine gute Trocknung der Samen ist es wichtig, eine hohe Luftfeuchtigkeit in den Röhrcen zu vermeiden. Deshalb dürfen die Reagenzgläser nur mit einem Baumwolldeckel abgedeckt werden. Nachdem die Samen vollständig trocken sind, können sie unter einer Sterilbank in einer 40-Millimeter-Petrischale oder einem Eppendorf-Röhrchen gesammelt werden.

Die *In-vitro*-Kultivierung mit unserem Protokoll dauert von der Aufzucht der Sämlinge bis zur Samengewinnung ungefähr 40 bis 45 Tage. Während dieser Zeit ist eine genaue phänotypische und genotypische Charakterisierung möglich – inklusive der eingehenderen Phänotypisierung des apikalen Wurzelmeristems.

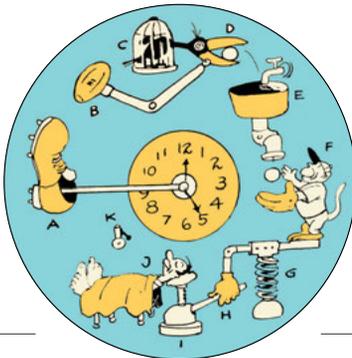
Wir verwenden dieses Protokoll seit 2003 routinemäßig und können mit ihm auch Samen aus einer wurzellosen Mutante erzeugen. Die Details finden Sie in unserem *Preprint*.

Taras Pasternak

#### Sie kennen auch einen guten Labortrick?

Für jeden abgedruckten Trick gibt's ein Laborjournal-T-Shirt.

Bitte mailen Sie an: [hz@laborjournal.de](mailto:hz@laborjournal.de)  
(Fotos von Trick & Tricklieferant erwünscht!)



# Neue Produkte

## DNA-EXTRAKTION

### Extraktions-Automat

**Name und Hersteller:**  
Insta NX Mag32 und 96 von  
HiMediaLaboratories

**Technik:** *Bead*-basierte Automaten für die Extraktion von Nukleinsäuren aus unterschiedlichen Quellen. Sie prozessieren bis zu 32/96 Proben pro Lauf mit Probenvolumina bis zu 600 Mikrolitern.



**Vorteile:** Einfache Bedienung über 7-Zoll-Touchscreen. Vorinstallierte Programme erlauben Extraktion in 15 bis 40 Minuten (Mag32) oder 30 bis 60 Minuten (Mag 96). Der geschlossene Arbeitsraum wird mit einer UV-Lampe sterilisiert, um Kontaminationen zu vermeiden.

**Mehr Informationen:**  
Tel. +49 6251 989 24 26  
[www.himedialabs.com](http://www.himedialabs.com)

## ZELLKULTUR

### Kulturschalen

**Name und Hersteller:**  
CellSoft von Flexcell International Corp.

**Vertrieb:** Dunn Labortechnik

**Technik:** Die Platten sind mit verschiedenen Wachstumsoberflächen (Härtegrade 1 - 80 kPa) und in unterschiedlichen Plattenformaten (runde Schalen und *Multiwell*-Platten) erhältlich.

**Vorteile:** Die 60 and 100 mm runden Kulturschalen sowie diverse *Multiwell*-Plattenformate, einschließlich BioFlex-Platten mit flexiblem Boden, sind ideal für die Passage von Zellen geeignet, um statische oder dynamische Dehnungsexperimente durchzuführen.

**Mehr Informationen:**  
Tel. +49 2683 4 30 94  
[www.dunnlab.de](http://www.dunnlab.de)



## FRAKTIONIEREN

### Feld-Flussfraktionierungs-System

**Name und Hersteller:**  
EAF2000-Serie von Postnova Analytics

**Technik:** Das System kann entweder für die herkömmliche Asymmetrische-Fluss-Feld-Flussfraktionierung eingesetzt werden oder alternativ als Hybrid-System, das beide Trennfelder im selben Kanal simultan verwendet.



**Vorteile:** Die Auftrennung von Proben mit herkömmlichen Fluss-Feldflussfraktionierungs-Systemen liefert eine Molekulargewichtsverteilung sowie eine Partikelgrößenverteilung als Ergebnis. Mit dem neuen Gerät können diese Molekulargewichtsverteilungen und Partikelgrößenverteilungen weiter unterschieden und um die Dimension einer Ladungsverteilung erweitert werden.

**Mehr Informationen:**  
Tel. +49 8191 985 6880  
[www.postnova.com](http://www.postnova.com)

## VAKUUM

### Laborpumpen

**Name und Hersteller:**  
Laboport-Serie von KNF Laborgeräte

**Technik:** Die Vakuumpumpe N 96 ist insbesondere für Filtration und Flüssigkeitsabsaugung geeignet. Für Rotationsverdampfung und Destillation empfehlen sich die Membran-Vakuumpumpen N 820 G und N 840 G mit einer Förderrate von bis zu 2,04 m<sup>3</sup>/h und einem Endvakuum von 6 mbar.

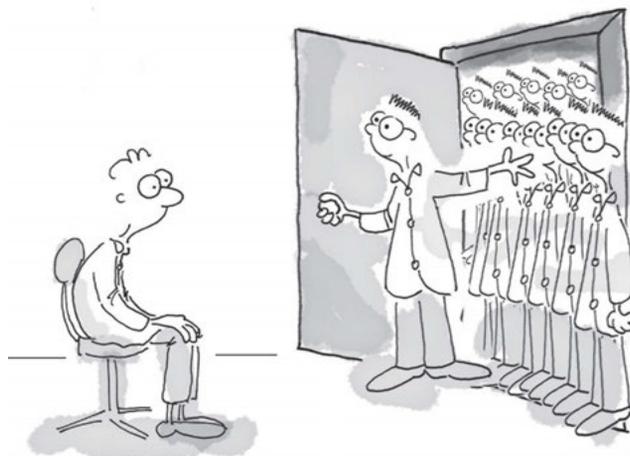
**Vorteile:** Mithilfe der Dreifarben-Anzeige erfasst man auf einen Blick den Zustand nach Betrieb, Stand-by oder Störung. Abscheider und/oder Kondensser lassen sich nach Bedarf einzeln anbauen. Der nahtlos einklappbare Handgriff ermöglicht einen leichten Transport der Pumpen.

**Mehr Informationen:**  
Tel. +49 7664 59090  
[www.knf.com](http://www.knf.com)



## Liebe Leserinnen, liebe Leser,

die zweite Corona-Welle ist längst da und immer mehr Kongresse und Workshops werden in den virtuellen Raum verlagert. Gleiches gilt für Vorträge, Fortbildungen und Kurse. Auch wenn einige Anbieter wieder den regulären Kursbetrieb in ihren Räumen aufgenommen haben – bei allen Veranstaltungen bleibt ein großes Fragezeichen. Schauen Sie deshalb bitte sicherheitshalber auf der Webseite der Organisatoren oder auf unserer Webseite ([www.laborjournal.de](http://www.laborjournal.de), Rubrik „Termine“) nach, ob die Veranstaltungen auch tatsächlich stattfinden – dort versuchen wir, möglichst aktuell zu sein.



# Kongresse, Tagungen, Symposia

## 2020

23.11.–25.11. Online  
**“Signalling across Scales” – 1st International Symposium of the Centre for Integrative Biological Signalling Studies (CIBSS)** | Info: [www.signallingacrosscales.com/home](http://www.signallingacrosscales.com/home)

27.11.–28.11. Online  
**EMBL Conference: 22nd EMBL PhD Symposium** | Info: <http://phdsymposium.embl.org>

2.12.–4.12. Online  
**When Hypotheses become Clinical Reality: The Quo Vadis of Regenerative Medicine – Symposium of the Berlin-Brandenburg School for Regenerative Therapies (BSRT)** | Info: <http://bsrt-symposium.charite.de>

24.12.–25.12. Online  
**14. International Conference on Computational Cell Biology (ICCCB 2020)** | Info: <https://waset.org/computational-cell-biology-conference-in-december-2020-in-vienna>

## 2021

21.1.–22.1. München  
**24. Jahrestagung der Sektion Neuroendokrinologie und Sitzung der AG Hypophyse (DGE)** | Info: [www.endokrinologie.net/veranstaltung/herbstsitzung-ag-hypophyse-2020.php](http://www.endokrinologie.net/veranstaltung/herbstsitzung-ag-hypophyse-2020.php)

26.1.–28.1. Frankfurt/M.  
**Conference on Advances in Chemical Biology** | Info: [https://dechema.de/ChemBio\\_21.html](https://dechema.de/ChemBio_21.html)

29.1.–30.1. Hamburg  
**9. Norddeutsche Hormon- und Stoffwechseltage** | Info: [www.endokrinologie.net/veranstaltung/nhst-2021.php](http://www.endokrinologie.net/veranstaltung/nhst-2021.php)

1.2.–4.2. Online  
**5th HBP Student Conference on Interdisciplinary Brain Research** | Info: [www.humanbrainproject.eu/en/education](http://www.humanbrainproject.eu/en/education)

15.2.–19.2. Wien (AT)  
**5th International Congress on Invertebrate Morphology (ICIM 5)** | Info: <https://icim5-2020.univie.ac.at>

24.2.–26.2. Heidelberg  
**21st International AEK Cancer Congress: Towards New Cancer Therapies – Mechanisms and Molecules** | Info: [www.aek-congress.org](http://www.aek-congress.org)

2.3.–5.3. Online  
**6th German Pharm-Tox Summit – Jahrestagung 2021 der Deutschen Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT)** | Info: [www.gpts-kongress.de](http://www.gpts-kongress.de)

2.3.–5.3. Online  
**EMBO | EMBL Symposium: Life at the Periphery – Mechanobiology of the Cell Surface** | Info: [www.embo-embl-symposia.org/symposia/2021/EES21-01](http://www.embo-embl-symposia.org/symposia/2021/EES21-01)

3.3.–5.3. Online  
**64. Deutscher Kongress für Endokrinologie** | Info: [www.dge2021.de](http://www.dge2021.de)

4.3. München  
**Job Vector Career Day – Karrieremesse für Ingenieure, Informatiker, Mediziner und Naturwissenschaftler** | Info: [www.jobvector.de/karrieremesse](http://www.jobvector.de/karrieremesse)

4.3.–6.3. Online  
**Parkinson und Bewegungsstörungen: Highlights Digital – Eine virtuelle Veranstaltung in Vorbereitung auf den Deutschen Kongress für Parkinson und Bewegungsstörungen 2022** | Info: [www.dpg-akbont-kongress-2021.de](http://www.dpg-akbont-kongress-2021.de)

10.3.–13.3. Heidelberg  
**EMBO | EMBL Symposium: Friend or Foe – Transcription and RNA Meet DNA Replication and Repair** | Info: [www.embo-embl-symposia.org](http://www.embo-embl-symposia.org)

15.3.–17.3. Bonn  
**29th Annual Meeting of the German Society for Parasitology** | Info: [www.parasitology-meeting.de](http://www.parasitology-meeting.de)

17.3.–19.3. Köln  
**Spring Meeting 2021/3rd Cologne Aging Conference „From Mechanisms to Disease“** | Info: <https://spring-meeting2021.uni-koeln.de>

17.3.–20.3. Online  
**EMBO | EMBL Symposium: Synthetic Morphogenesis – From Gene Circuits to Tissue Architecture** | Info: [www.embo-embl-symposia.org/symposia](http://www.embo-embl-symposia.org/symposia)

18.3.–19.3. Online  
**Jahrestagung 2021 der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM)** | Info: <https://vaam.de/aktivitaeten/jahrestagung>

24.3.–26.3. Online  
**EMBL Conference: Visualizing Biological Data (VIZBI 2021)** | Info: [www.embl.de/training/events/2021](http://www.embl.de/training/events/2021)

24.3.–26.3. Online  
**14th International Symposium on Ticks and Tick-borne Diseases** | Info: [www.ittd-symposium.com](http://www.ittd-symposium.com)

24.3.–27.3. Online  
**Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2021** | Info: <https://nwg-info.de/de/meetings/jahrestagung>

24.3.–27.3. Online  
**30th Annual Meeting of the Society for Virology** | Info: [www.virology-meeting.de](http://www.virology-meeting.de)

25.3.–27.3. Mosbach/Baden  
**72nd Mosbach Kolloquium: Immune Engineering – From Molecules to Therapeutic Approaches** | Info: <https://mosbacher-kolloquium.org>

29.3.–30.3. Aachen  
**10th International Meeting of the Stem Cell Network North Rhine-Westphalia** | Info: [www.congress.stemcells.nrw.de](http://www.congress.stemcells.nrw.de)

6.4.–10.4. Sölden (AT)  
**22nd International Neuroscience Winter Conference** | Info: [www.winterneuroscience.org/2020](http://www.winterneuroscience.org/2020)

8.4.–10.4. München  
**3rd International Conference on Lymphocyte Engineering** | Info: <https://lymphocyte.kenes.com>

14.4.–18.4. Ascona (CH)  
**Conference on Constraints on Species' Ranges and Niche Evolution** | Info: <https://duw.unibas.ch/de/csf-2020>

21.4.–23.4. Heidelberg  
**EMBL-Wellcome Genome Campus Conference: Proteomics in Cell Biology and Disease Mechanisms** | Info: [www.embl.de/training/events/2021/PRO21-02](http://www.embl.de/training/events/2021/PRO21-02)

27.4.–29.4. Frankfurt/M.  
**Trends in Metabolomics (Dechema Meeting)** | Info: <https://dechema.de/Metabolomics2021.html>

28.4. Heidelberg  
**CONTACT 2021 – 20th Life Science Job Fair** | Info: [www.biocontact.info/contact2020](http://www.biocontact.info/contact2020)

1.5.–7.5. Les Diablerets (CH)  
**Cilia, Mucus and Mucociliary Interactions – Gordon Research Seminar and Conference** | Info: [www.grc.org/cilia-mucus-and-mucociliary-interactions-conference/2021](http://www.grc.org/cilia-mucus-and-mucociliary-interactions-conference/2021)

4.5.–6.5. Hannover  
**Labvolution 2021 – Die ganze Welt des Labors** | Info: [www.labvolution.de](http://www.labvolution.de)

5.5.–7.5. Freiburg  
**3D Cell Culture Conference 2021: Models, Applications and Translation** | Info: <https://dechema.de/3DCC2021.html>

5.5.–8.5. Heidelberg  
**EMBO | EMBL Symposium: The Identity and Evolution of Cell Types** | Info: [www.embo-embl-symposia.org/symposia/2021/EES21-05](http://www.embo-embl-symposia.org/symposia/2021/EES21-05)

6.5.–7.5. Halle (Saale)  
**IPB Plant Biochemistry Symposium on Plant Cell Walls** | Info: <https://events.ipb-halle.de/event/60>

8.5.–12.5. Hamburg  
**40th Blankenese Conference – Evolutionary Medicine** | Info: [www.zmnh.uni-hamburg.de/blankenese\\_conferences/](http://www.zmnh.uni-hamburg.de/blankenese_conferences/)

8.5.–14.5. Les Diablerets (CH)  
**Dendrites: Molecules, Structure and Function – Gordon Research Seminar and Conference** | Info: [www.grc.org/dendrites-molecules-structure-and-function-conference/2021](http://www.grc.org/dendrites-molecules-structure-and-function-conference/2021)

11.5. Marburg  
**Synmikro Symposium on Antibiotics, Drugs & Rock'n'Roll: Natural Products & Synthetic Biology** | Info: <https://synmikro.com/news/events/natural-products-and-synthetic-biology.html>

11.5.–14.5. Wien (AT)  
**12th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology** | Info: [www.worldmeeting.org](http://www.worldmeeting.org)

17.5.–18.5. Mainz  
**Neuro4D Conference 2021: Drug Discovery for Proteopathic Neurodegenerative Diseases – New Disease Models, Latest Technologies & Innovative Targets** | Info: [www.neuro4d.com](http://www.neuro4d.com)

17.5.–20.5. Heidelberg  
**EMBL Conference: Chromatin and Epigenetics** | Info: [www.embl.de/training/events/2021/CHR21-01](http://www.embl.de/training/events/2021/CHR21-01)

19.5.–20.5. Saarbrücken  
**Symposium 2021 des Helmholtz-Instituts für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS)** | Info: [www.hips.saarland/symposium](http://www.hips.saarland/symposium)

20.5.–22.5. Berlin/Online  
**The International Hepatitis E Symposium** | Info: [www.g-f-v.org/node/1221](http://www.g-f-v.org/node/1221)

22.5.–28.5. Les Diablerets (CH)  
**Modulation of Neural Circuits and Behavior – Gordon Research Seminar and Conference** | Info: [www.grc.org/modulation-of-neural-circuits-and-behavior-conference/2021](http://www.grc.org/modulation-of-neural-circuits-and-behavior-conference/2021)

25.5.–27.5. Heidelberg  
**EMBL Conference: BioMalPar XVII – Biology and Pathology of the Malaria Parasite** | Info: [www.embl.de/training/events/2021/BMP21-01](http://www.embl.de/training/events/2021/BMP21-01)

26.5.–28.5. Magdeburg  
**5th Functional Architecture of Memory (FAM) Conference** | Info: [www.lin-magdeburg.de/forschung/konferenzen](http://www.lin-magdeburg.de/forschung/konferenzen)

26.5.–28.5. Tübingen  
**Novel Concepts of Innate Immunity (NCII 2021)** | Info: [www.innate-immunity-conference.de](http://www.innate-immunity-conference.de)

29.5.–4.6. Les Diablerets (CH)  
**Malaria – Gordon Research Seminar and Conference** | Info: [www.grc.org/malaria-conference/2021](http://www.grc.org/malaria-conference/2021)

## Workshops

### 2020

23.11.–25.11. Online  
**5th AEK Autumn School: Replication Stress in Cancer** | Info: [www.aek-conferences.org/autumnschool2020](http://www.aek-conferences.org/autumnschool2020)

6.12.–8.12. Online  
**EMBO Workshop: In situ Structural Biology – From Cryo-EM to Integrative Modelling** | Info: [www.embl.de](http://www.embl.de)

### 2021

28.2.–5.3. Ettal  
**Spring School on Immunology 2021** | Info: <https://dgfi.org/akademie-fuer-immunologie/spring-school>

25.3. Berlin  
**Paul-Martini-Workshop 2021: Gentherapien – Heilung bei schweren Erkrankungen in Aussicht?** | Info: [www.paul-martini-stiftung.de/workshop/2021](http://www.paul-martini-stiftung.de/workshop/2021)

28.4.–30.4. Heidelberg  
**EMBO Workshop: The Epitranscriptome** | Info: [www.embl.de/training](http://www.embl.de/training)

19.5.–22.5. Wien (AT)  
**EMBL Workshop: Awakening of the Genome – The Maternal-to-Zygotic Transition** | Info: <https://coming-soon.embo.org/w21-16>

20.5. Frankfurt/M.  
**Workshop Channeling – An Engineering Tool in Biotechnology?** | Info: <https://dechema.de/en/channeling2021.html>

7.6.–11.6. Dresden  
**EMBO Workshop: Physics of Living Systems – From Molecules to Tissues** | Info: [www.embo.org/events/events-calendar.html](http://www.embo.org/events/events-calendar.html)

13.6.–16.6. Heidelberg  
**EMBO Workshop: Predicting Evolution** | Info: [www.embl.de/training/events/2021/PEV21-01](http://www.embl.de/training/events/2021/PEV21-01)

24.6.–26.6. Berlin  
**EMBO Workshop: The ISG15 System in Molecular Function and Disease Mechanism** | Info: <https://coming-soon.embo.org/w21-10>

## Deer-Review



Das Original gibt's nur bei uns im LABORJOURNAL-Shop unter: [www.laborjournal.de/shop](http://www.laborjournal.de/shop)

„Pear Reviewed“-Shirt geschmackvolles Schwarz nur 15,- € inkl. MwSt. und Versand (exkl. Hirsch)

für Vegetarier

# Fortbildungen, Kurse 2020

## BIOCHEMIE

14.12.2020.–14.3.2021 Online  
**Springer Campus: Biochemie II für Laborfachkräfte** | *Info: [www.springer.com/gp/springer-campus](http://www.springer.com/gp/springer-campus)*

## CHROMATOGRAPHIE UND SPEKTROMETRIE

7.12.–21.12. Online  
**Springer Campus: HILIC, SFC und weitere polare Trenntechniken** | *Info: [www.springer.com/gp/springer-campus](http://www.springer.com/gp/springer-campus)*

## IMMUNOLOGIE

23.11.–24.11. München  
**Lab-Academy-Grundkurs: Assayentwicklung und Validierung für ELISA** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

27.11. Online  
**Lab-Academy-Online-Kurs: ELISA – Optimierung und Qualitätssicherung** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

30.11. Online  
**Lab-Academy-Online-Kurs: ELISA – Assayentwicklung und Validierung** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

## MIKROBIOLOGIE

19.11.–20.11. München  
**Lab-Academy-Grundkurs: Mikrobielle Qualitätskontrolle** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

23.11.–26.11. Berlin  
**DIW-MTA-Weiterbildung: Spezielle klinische Mikrobiologie mit exemplarischer Befundinterpretation** | *Info: <https://diw-mta.de/hygiemanagement-epidemiologie-mikrobiologie-virologie-termine>*

24.11.–25.11. Berlin  
**Klinkner-Seminar: Mikrobiologie und Hygiene** | *Info: [www.klinkner.de/](http://www.klinkner.de/)*

24.11. Berlin  
**Klinkner-Seminar: Mikrobiologie und Hygiene – Grundlagen der Mikrobiologie** | *Info: [www.klinkner.de/](http://www.klinkner.de/)*

25.11. Berlin  
**Klinkner-Seminar: Hygienisches Arbeiten im Mikrobiologie-Labor** | *Info: [www.klinkner.de/](http://www.klinkner.de/)*

## IN SILICO

2.12.2020.–9.7.2021 Berlin/Online  
**CQ-Fortbildung: Anwendungsbezogene Bioinformatik und Biostatistik** | *Info: [www.cq-bildung.de/weiterbildungen/biotech-life-sciences/anwendungsbezogene-bioinformatik-biostatistik](http://www.cq-bildung.de/weiterbildungen/biotech-life-sciences/anwendungsbezogene-bioinformatik-biostatistik)*

9.12.–11.12. Online  
**EcSeq Online Course: A Practical Introduction to NGS Data Analysis** | *Info: [www.ecseq.com/workshops/ngs-data-analysis-courses](http://www.ecseq.com/workshops/ngs-data-analysis-courses)*

## KARRIERE

19.11. Bonn  
**DHV-Seminar: Wissenschaftszeitvertragsgesetz und TV-L** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

23.11.–24.11. Online  
**DHV-Live-Online-Seminar: Social Media in der Wissenschaftskommunikation** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

23.11. Online  
**DHV-Live-Online-Seminar: Verhandlungen bei Erstberufung** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

24.11. Berlin  
**DHV-Seminar: Die Professur – Rechte und Pflichten** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

26.11. Online  
**DHV-Live-Online-Seminar: Erfolgreiche Besoldungsverhandlungen und Besoldungsoptimierungen in „W“** | *Info: [www.dhvseminare.de](http://www.dhvseminare.de)*

26.11. Mannheim  
**DHV-Seminar: Erfolgreiche Besoldungsverhandlungen & Besoldungsoptimierungen in „W“** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

14.12. Bonn  
**DHV-Seminar: Verhandlungen bei Erstberufung** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

15.12. Online  
**DHV-Live-Online-Seminar: Bewerbung um eine Professur** | *Info: [www.dhvseminare.de/naechste\\_termine](http://www.dhvseminare.de/naechste_termine)*

## LABOR-MANAGEMENT

24.11.–26.11. Leimen  
**EMBO Laboratory Management Course: Laboratory Leadership for Postdocs** | *Info: <http://lab-management.embo.org/dates/ell-pd-2020>*

1.12.–4.12. Leimen  
**EMBO Laboratory Management Course: Laboratory Leadership for Group Leaders** | *Info: <http://lab-management.embo.org/dates/ell-gl-2020>*

8.12.–10.12. Leimen  
**EMBO Laboratory Management Course: Laboratory Leadership for Postdocs** | *Info: <http://lab-management.embo.org/dates/ell-pd-2020>*

15.12.–17.12. Online  
**EMBO Laboratory Management Course: Laboratory Leadership for Group Leaders** | *Info: <http://lab-management.embo.org/dates/ell-gl-2020>*

## MOLEKULARBIOLOGIE

30.11.–4.12. Berlin  
**DIW-MTA-Weiterbildung: Molekulare Genetik & Methoden der Molekularbiologie** | *Info: <https://diw-mta.de>*

7.12.2020–4.6.2021 Berlin/Online  
**Labormethoden der Molekularbiologie und Zellkultur** | *Info: [www.cq-bildung.de/bildung/biotech-life-sciences](http://www.cq-bildung.de/bildung/biotech-life-sciences)*

7.12.2020–4.10.2021 Berlin/Online  
**Labormethoden der Molekularbiologie und Mikrobiologie** | *Info: [www.cq-bildung.de/bildung/biotech-life-sciences](http://www.cq-bildung.de/bildung/biotech-life-sciences)*

14.12.–15.12. München  
**Lab-Academy-Basiskurs: Genome Editing** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

Weitere Kongresse, Tagungen, Fortbildungen etc. finden Sie auf unserer Homepage im Verzeichnis „Termine“. Kurze Ankündigungen in unserem Serviceteil sind kostenlos. Schicken Sie uns Ihre Terminhinweise oder einen Link zu Ihrer Website. Aus Platzgründen können wir allerdings nur Veranstaltungen veröffentlichen, die für einen Großteil unserer Leser von Interesse sind. So erreichen Sie uns:

LJ-Verlag, Merzhauser Str. 177, 79100 Freiburg, E-Mail: [verlag@laborjournal.de](mailto:verlag@laborjournal.de)

## MIKROSKOPIE

25.11.–26.11. München  
**Lab-Academy-Grundkurs: Mikroskopieren mit Licht- und Fluoreszenzmikroskopie** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

4.12.–5.12. Berlin  
**DIW-MTA-Weiterbildung: Mikroskopische Diagnostik hämatologischer Erkrankungen (Tutorium)** | *Info: <https://diw-mta.de>*

## PCR

7.12.–8.12. München  
**Lab-Academy-Kurs: PCR-Basiswissen für die Praxis** | *Info: [www.lab-academy.de](http://www.lab-academy.de)*

## ZELLEN UND GEWEBE

9.12.2020–9.3.2021. Online  
**Springer Campus: Gentechnik und Zellkultur für Laborfachkräfte** | *Info: [www.springer.com/gp/springer-campus](http://www.springer.com/gp/springer-campus)*

## SONSTIGE VERANSTALTUNGEN

24.11. Berlin  
**Akademie Gläsernes Labor: Protecting your Innovation – Workshop on Intellectual Property and Regulatory Exclusivity in Biotech and Pharma** | *Info: [www.glaesernes-labor-akademie.de/de/biotech-pharma](http://www.glaesernes-labor-akademie.de/de/biotech-pharma)*

4.12.–10.12. Online  
**EMBL Course: Design Thinking – Approaches for Chronic Disease Management** | *Info: [www.embl.de/training/events/2020/CDM20-01](http://www.embl.de/training/events/2020/CDM20-01)*

7.12.–10.12. Essen  
**DIW-MTA-Weiterbildung: Stoffwechsel- und Organerkrankungen** | *Info: <https://diw-mta.de/klinische-chemie-fortbildung-termine>*

# Stellenanzeigen



## Firmenprofil

Die Reaction Biology Europe GmbH ([www.reactionbiology.com](http://www.reactionbiology.com)) in Freiburg i.Br. ist ein Tochterunternehmen der Reaction Biology Corporation, dem größten globalen Anbieter von Kinase-Assays. Als weltweit tätiges Dienstleistungsunternehmen im Bereich der präklinischen Medikamentenentwicklung mit Schwerpunkt Onkologie führen wir biochemische, zelluläre und tierexperimentelle Arbeiten im Kundenauftrag in unseren Laboratorien durch.

## Wir suchen

Zur Erweiterung unseres „In Vivo Pharmacology-Teams“ suchen wir ab sofort (Vollzeit):

**B.Sc. / VMTA / MTA / BTA /  
Biologielaborant / Tierpfleger (m/w/d)**

## Aufgaben:

- Durchführung von präklinischen in vivo Wirksamkeitsstudien zur Entwicklung neuer Medikamente für die Krebstherapie. Die Arbeit erfolgt im Team unter Anleitung des vorgesetzten Studienleiters.

## Ihr Profil:

- Erfahrung im Umgang mit Mäusen
- Besitz des FELASA Zertifikats (vormals Kategorie B)
- Kenntnisse in der Kultivierung von Zellen
- Zuverlässige, zielstrebige, eigenverantwortliche und teamorientierte Arbeitsweise
- Bereitschaft zum Wochenenddienst (Dienstplan)
- Erfahrungen in der Labororganisation
- Fähigkeiten im Umgang mit Computern
- Englischkenntnisse und Kommunikationsvermögen für die Arbeit in einem internationalen Umfeld sind ein Plus

## Wir bieten:

- Einen modernen Arbeitsplatz und ein spannendes Aufgabengebiet beim Mitwirken in der Medikamentenentwicklung
- Arbeit in einer zukunftssicheren Branche in einem erfolgreichen und wachsenden Unternehmen
- Flexible Arbeitszeiten
- Unbefristete Stelle mit 31 Tagen Urlaub und vertraglichen Sonderleistungen
- Wochenenddienst-Vergütung, betriebliche Bonusregelung, Kinderbetreuungsbonus
- Arbeitsplatz in Freiburg im attraktiven Dreiländereck Deutschland / Frankreich / Schweiz

## Interessiert?

Bitte reichen Sie uns Ihre Bewerbung (inklusive Zeugnisse) mit Gehaltsvorstellung und möglichem Eintrittstermin über unser Jobportal ein:

<https://www.reactionbiology.com/company/careers>

unter Nennung der ID #RB-2020-10/CO.

Wir freuen uns auf Ihre Bewerbung.

## ANZEIGENSCHLUSSTERMINE IM SERVICETEIL

Ausgabe 12-2020 (erscheint am 10.12.2020) **26.11.2020**

Ausgabe 1/2-2021 (erscheint am 08.02.2021) **25.01.2021**

Ausgabe 3-2021 (erscheint am 09.03.2021) **23.02.2021**

Da wir im Serviceteil möglichst aktuell sein wollen, gilt hier ein besonderer Anzeigenschluss. Stellen- und Kongressanzeigen nehmen wir bis kurz vor Druckbeginn an. Aus technischen Gründen können wir leider keine genauen Termine nennen. Rufen Sie uns einfach an (0761-2925885) oder schicken Sie uns eine E-Mail („stellen@laborjournal.de“).



Zur Unterstützung unseres Molecular Immunology-Teams in Freiburg suchen wir zum nächstmöglichen Zeitpunkt qualifizierte

## Technische Assistenten (m/w/d)

### Ihre Aufgaben:

- Selbständige Durchführung und Anwendung molekularbiologischer Grundtechniken (RNA- und DNA-Extraktion, PCR, DNA-Klonierung und -Sequenzierung, Proteinexpression)
- Arbeiten unter sterilen Bedingungen im Zelllabor (Zellkultur, Transfektion eukaryotischer und prokaryotischer Zellen)
- Durchführung zellbasierter Analytik (u.a. Durchflusszytometrie, Zellzählung, robotisches Picken von Zell-Kolonien)
- Übernahme von projektbezogenen organisatorischen Tätigkeiten (Projekt Übersichtstabellen pflegen, in Zusammenarbeit mit unseren Dienstleistern Projektablaufe koordinieren)

### Ihr Profil:

- Abgeschlossene Berufsausbildung zum BTA, PTA, CTA, MTLA oder vergleichbare Qualifikation
- Belastbarkeit, Flexibilität sowie die Bereitschaft technische Prozesse zu erlernen, einzuführen und zu verbessern
- Ausgeprägte Fähigkeit zur Teamarbeit
- Strukturierte und unabhängige Arbeitsweise, ausgezeichnete organisatorische Fähigkeiten
- Gute Deutschkenntnisse und Englischkenntnisse in Wort und Schrift
- Erfahrung mit Microsoft Office Anwendungen

Bitte senden Sie uns Ihre vollständigen Bewerbungsunterlagen mit Angabe des möglichen Eintrittstermins per E-Mail an:

**Dr Beril Kromer**

**Manager Molecular Immunology**

**[bkromer@genovac.com](mailto:bkromer@genovac.com)**

**Genovac GmbH (formerly Aldevron Freiburg GmbH)**

Waltershofener Str. 17 • 79111 Freiburg • [www.genovac.com](http://www.genovac.com)

## PREISE FÜR STELLENANZEIGEN

### » Print

Format (Breite x Höhe in mm)	s/w	farbig
1/1 Seite (185 x 260)	€ 2.150,-	€ 2.890,-
1/2 Seite (90 x 260 oder 185 x 130)	€ 1.150,-	€ 1.630,-
1/3 Seite (90 x 195)	€ 910,-	€ 1.330,-
1/4 Seite (90 x 130)	€ 650,-	€ 970,-
1/8 Seite (90 x 65)	€ 440,-	€ 640,-
Millimeterpreis	s/w	farbig
90 mm breit	€ 6,80	€ 9,90
185 mm breit	€ 13,60	€ 18,80

Eine Veröffentlichung auf unserem Online-Stellenmarkt (Laufzeit: 1 Monat) ist bei Printanzeigen inklusive. Auf Wunsch gestalten wir die Anzeigen nach Ihren Vorgaben. Dieser Service ist im Preis inbegriffen. Bei Rückfragen erreichen Sie uns unter der Telefonnummer +49(0)761/292 5885 oder unter der E-Mail-Adresse [stellen@laborjournal.de](mailto:stellen@laborjournal.de)

### » Online

Online Premium (PDF-, HTML-Format:) € 600,-/Monat

Platzierung im Stellenmarkt auf den ersten vier Positionen während der gesamten Laufzeit, Teaser auf der Startseite [www.laborjournal.de](http://www.laborjournal.de) (monatlich ca. 7.000 Page Impression); maximal 4 Premium-Anzeigen pro Monat.

Online Classic (PDF-, HTML-Format:) € 430,-/Monat



Hessisches  
Landeskriminalamt

Im Hessischen Landeskriminalamt in der Abteilung 6 – Kriminalwissenschaftliches und -technisches Institut – ist in der Fachgruppe 63 – Biologie, DNA-Analytik, Textilkunde – zum nächstmöglichen Termin eine **unbefristete** Stelle für einen

## promovierten Biologen, Biochemiker, Chemiker (m/w/d) mit Studienschwerpunkt im Bereich der Molekularbiologie und/oder der forensischen Genetik

in **Vollzeit** zu besetzen.

Die Eingruppierung erfolgt in der EntGr. 13 TV-H. Bei entsprechender Eignung und Vorliegen der beamtenrechtlichen Voraussetzungen wird eine Übernahme in das Beamtenverhältnis (A13 der Besoldungsordnung A des HBesG) angestrebt.

### Ihre Aufgaben

- die teamorientierte Bearbeitung forensischer Spurenfälle der einfachen, mittleren und schweren Kriminalität zur Straftatenaufklärung mittels molekularbiologischer Untersuchungsverfahren („*Genetischer Fingerabdruck*“)
- unterstützende Tatortarbeit und Laborarbeit mit Spurensuche
- serologische/DNA-analytische Begutachtung verschiedener biologischer Spuren (wie z. B. Blut, Sperma, Speichel, Vaginalsekret, Hautabrieb etc.)
- eigenverantwortliche Erstellung forensischer Gutachten und deren Vertretung vor Gericht
- Etablierung und Validierung neuer Methoden zur forensischen Spurenanalyse
- Übernahme von Aufgaben im Rahmen des Qualitätsmanagementsystems

### Ihr Profil

- abgeschlossenes naturwissenschaftliches Hochschulstudium mit Promotion und Studienschwerpunkt im Bereich der Molekularbiologie oder forensischen Genetik; *Hinweis: Es muss gewährleistet sein, dass die Promotion spätestens drei Monate nach Abgabe der Bewerbung abgeschlossen ist. Eine entsprechende Erklärung ist der Bewerbung beizufügen!*
- sehr gute bis gute Abschlussnoten im Masterstudium und der Promotion (mindestens Note 2,0 oder vergleichbar)
- sehr gute Kenntnisse der deutschen und englischen Sprache in Wort und Schrift
- fundierte Kenntnisse der gängigen forensischen DNA-Extraktionsmethoden, quantitative und qualitative PCR, Kapillarelektrophorese etc.
- Erfahrungen mit STR-Markern und GeneScan- bzw. GeneMapper-Software
- sicherer Umgang mit den gängigen MS-Programmen (Word, Excel, PowerPoint, Outlook)
- sicheres Auftreten, sehr gutes mündliches und schriftliches Ausdrucksvermögen
- ein hohes Maß an Engagement, Teamfähigkeit und Flexibilität
- Bereitschaft zur ständigen Aus- und Fortbildung
- Bereitschaft zum Dienst außerhalb der Regelarbeitszeiten

### Wünschenswert

- idealerweise verfügen Sie über Erfahrungen im Bereich der Forensik (Spurenanalyse, Erstellung von Spurengutachten, Abstammungsgutachten, Biostatistik, Qualitätsmanagement).
- Erfahrungen im Bereich der Prozessautomatisierung, Robotics
- theoretisches Wissen oder praktische Erfahrungen mit der forensischen Parallelsequenzierung (NGS-/MPS-Technologie)
- theoretisches Wissen oder praktische Erfahrungen mit Methoden zur DNA-Phänotypisierung und zur biogeographischen Herkunftsbestimmung
- theoretisches Wissen oder praktische Erfahrungen bei der DNA-Analyse altersabhängiger Methylierungsmuster (epigenetische Modifikationen)
- Erfahrungen mit der Co-Extraktion von DNA und RNA

### Wir bieten

- ein abwechslungsreiches, vielseitiges und innovatives Aufgabengebiet
- eine fundierte und strukturierte Einarbeitung
- die Mitarbeit in einem engagierten Team in angenehmer Arbeitsatmosphäre
- interne und externe Weiterbildungsmöglichkeiten
- flexible Arbeitszeiten im Rahmen unserer Gleitzeitregelungen und ein attraktives Gesundheitsmanagement

*Ihre Bewerbungsunterlagen müssen zu den Profilanforderungen die entsprechenden Nachweise (z.B. Zeugnisse und Zertifikate) enthalten. Unvollständig vorgelegte Bewerbungen führen zum Ausschluss aus dem Verfahren.*

Für Nachfragen und weitere Informationen zur ausgeschriebenen Stelle steht Herr Dr. Schneider unter der Tel.-Nr. 0611/83-63000 und Frau Dr. Schmidt unter -63200 zur Verfügung. Für Fragen rund um Ihre Bewerbung kontaktieren Sie bitte das Einstellungsmanagement unter den Tel.-Nr. 0611/83-23161 oder -23162.

Teilzeitbeschäftigung ist grundsätzlich möglich, es muss jedoch gewährleistet sein, dass die Stelle in vollem Umfang besetzt wird.

Die berufliche Gleichstellung von Frauen und Männern wird gewährleistet. Bewerbungen von Frauen in Bereichen, in denen sie unterrepräsentiert sind, sind besonders erwünscht.

Bewerbungen von Menschen mit Behinderungen im Sinne des § 2 Abs. 2 SGB IX werden bei gleicher Qualifikation bevorzugt berücksichtigt. Ein entsprechender Nachweis ist der Bewerbung beizufügen.

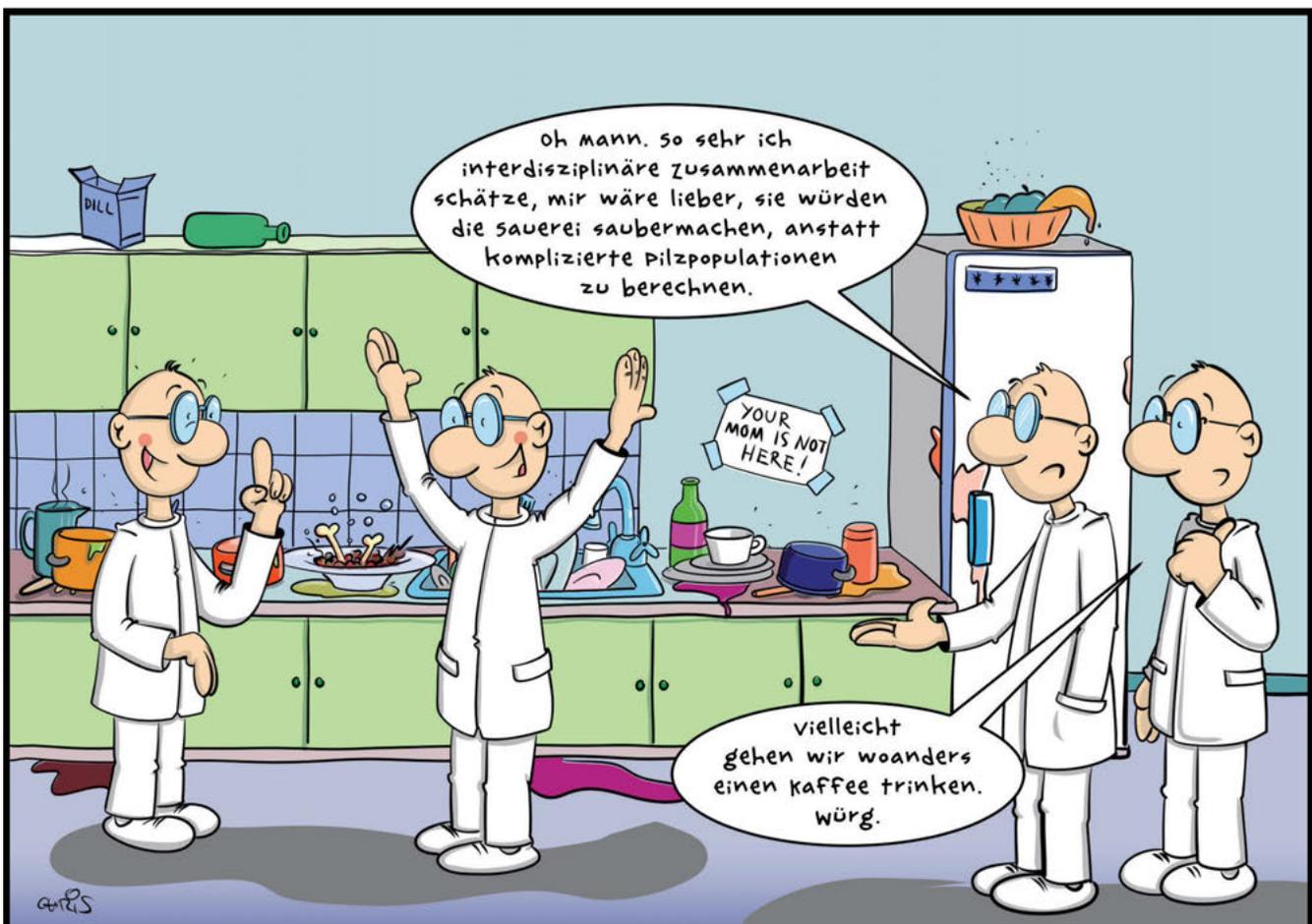
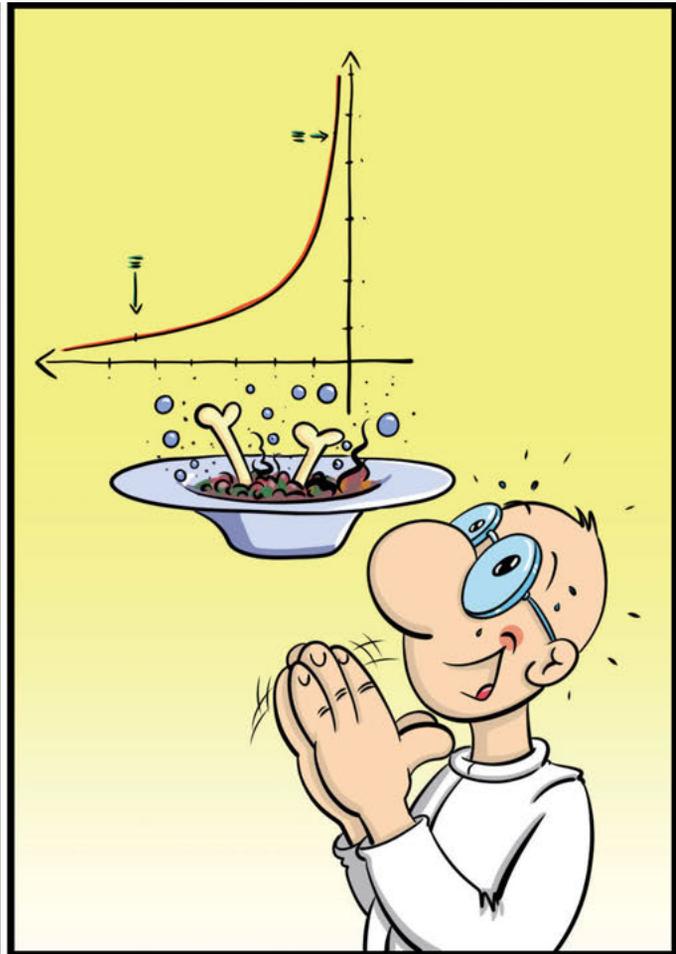
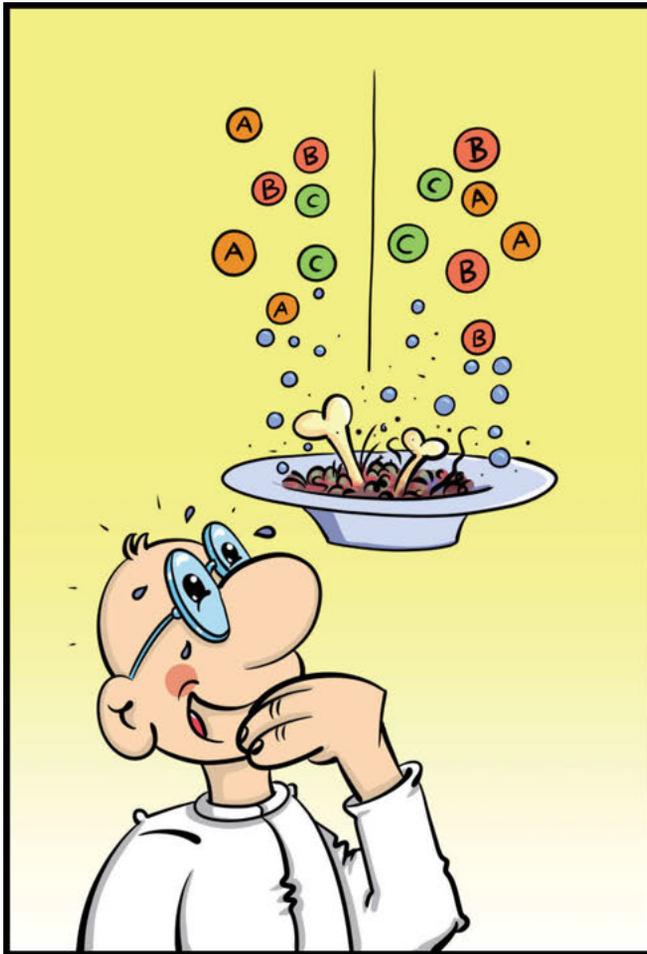
Die Erfassung und Verarbeitung Ihrer personenbezogenen Daten zum Zwecke der Durchführung des Bewerbungsverfahrens erfolgt auf der Grundlage des § 23 des Hessischen Datenschutz- und Informationsgesetzes (HDSIG). Mit Ihrer Bewerbung erklären Sie sich ausdrücklich einverstanden, dass die von Ihnen übersandten Daten zum Zwecke des Bewerbungsverfahrens Verwendung finden dürfen. Diese Einwilligung ist jederzeit widerruflich (Art. 7 Abs. 3 S. 1 Datenschutz-Grundverordnung).

Ehrenamtliches Engagement wird in Hessen gefördert. Soweit Sie ehrenamtlich tätig sind, wird gebeten, dies in den Bewerbungsunterlagen anzugeben. Im Ehrenamt erworbene Erfahrungen und Fähigkeiten können gegebenenfalls im Rahmen von Eignung, Befähigung und fachlicher Leistung positiv berücksichtigt werden, wenn sie für die vorgegebene Tätigkeit förderlich sind.

Dem Hessischen Landeskriminalamt wurde aufgrund der Sicherheit des Arbeitsplatzes und einer wertschätzenden Behördenkultur das Gütesiegel „Familienfreundlicher Arbeitgeber Land Hessen“ vom Hessischen Ministerium des Innern und für Sport verliehen.

Für die Beschäftigten des Landes Hessen besteht, zunächst bis Ende 2021, die Möglichkeit zur kostenfreien Nutzung des öffentlichen Personennahverkehrs (ÖPNV) in Hessen.

Vollständige Bewerbungsunterlagen sind unter Angabe der **Kennziffer A 38 / 2020** bis zum **29. November 2020** per E-Mail an [bewerbung@hlka.de](mailto:bewerbung@hlka.de) zu senden. Anlagen zu Ihrer Bewerbung können ausschließlich im pdf-Format entgegengenommen werden. In Ausnahmefällen ist auch eine Übersendung der Bewerbungsunterlagen auf dem Postweg an das **Hessische Landeskriminalamt, Einstellungsmanagement, Hölderlinstraße 1 – 5, 65187 Wiesbaden**, möglich. Eine Rücksendung von Bewerbungsunterlagen und Mappen erfolgt jedoch nicht.



# 30% geschenkt.

## Und ...



## ... das ist noch nicht alles!

Bis zu **30%** geschenkt\*  
und wir legen noch eine  
**KitchenAid Küchenmaschine**  
mit allerlei Zubehör oben drauf.

**Und so geht's:** Bestellen Sie bis  
zum 30. November 2020 einen  
Magnetrührer. Schicken Sie eine  
Mail mit Ihrer Rechnungsnummer  
an [gewinnen@carlroth.de](mailto:gewinnen@carlroth.de) und  
nehmen Sie so automatisch an  
unserer Verlosung teil.

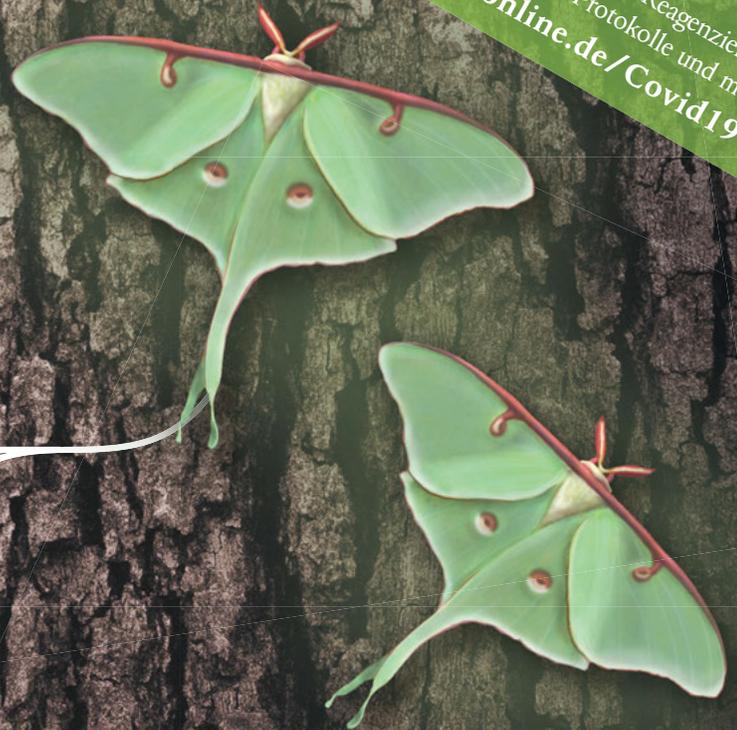
[carlroth.de](http://carlroth.de)



*More for less  
für Ihr Labor.*



\* auf ausgewählte Produkte unter [www.carlroth.de/blog/30geschenkt](http://www.carlroth.de/blog/30geschenkt)



# Lighting the way.™

## Luna® Universal qPCR & RT-qPCR Produkte.

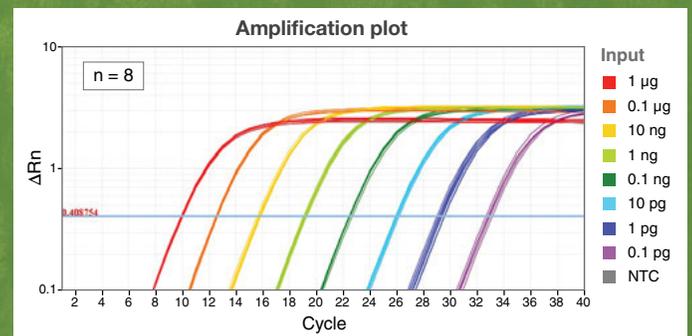
### Ihre Luna-Vorteile:

- Einfaches Reaktions-Setup & schnelle Protokolle
- Höchste Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit
- Exzellente Sensitivität und Genauigkeit auf allen Templates (egal ob AT-reich, GC-reich, ...)
- Kompatibel mit allen gängigen qPCR-Maschinen (inkl. ROX) und verfügbar für farbstoff- oder sondenbasierte Detektion
- Ein inerter blauer Farbstoff im Luna-Mastermix dient Ihnen als Schutz vor Pipettierfehlern

Informieren Sie sich noch heute und bestellen Sie Ihr kostenfreies Testmuster unter:

[www.neb-online.de/qPCR](http://www.neb-online.de/qPCR)

NEBs Luna-Kits für RT-qPCR nutzen eine einzigartige „Designer“ Reverse Transkriptase und bieten Ihnen unerreichte Sensitivität, Reproduzierbarkeit und qPCR-Performance.



RT-qPCR gegen humane GAPDH RNA mittels Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit\*\* über 8-log Verdünnungsstufen der Input-RNA (0,1 pg – 1 µg Jurkat Gesamt-RNA) und 8 Replikaten pro Verdünnung. Reaktionsansatz und Temperaturzyklus nach Protokollangaben, inklusive einem 10-minütigen RT-Schritt bei 55°C für die thermostabile Luna WarmStart® Reverse Transcriptase. NTC = Kontrolle ohne RNA-Input.

\*\*RTase auch für Two-Step-Protokolle als praktisches LunaScript® RT SuperMix Kit separat erhältlich!